

ALPHAFETOPROTEIN:
BEDEUTUNG FÜR DIE DIAGNOSTIK UND VERLAUFSBEURTEILUNG
EMBRYONALER TUMOREN,
SCHWANGERSCHAFTSÜBERWACHUNG UND
BEURTEILUNG DES REIFEGRADES NEUGEBORENER

Elisabeth Hiermeyer

1976

Dissertations- und Fotodruck Anneliese SCHUBERT
8 München 5 • Corneliusstraße 21 • Tel.: 268177

AUS DEM INSTITUT FÜR KLINISCHE CHEMIE
AM KLINIKUM GROSSHADERN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. M. Knedel

ALPHAFETOPROTEIN:
BEDEUTUNG FÜR DIE DIAGNOSTIK UND VERLAUFSBEURTEILUNG
EMBRYONALER TUMOREN,
SCHWANGERSCHAFTSÜBERWACHUNG UND
BEURTEILUNG DES REIFEGRADES NEUGEBORENER

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elisabeth Hiermeyer
aus Freising

München 1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. Doz. Dr. A. FATEH-MAGHADAM
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. KNEDEL
Dekan:	Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.1976

INHALTSVERZEICHNIS

KAPITEL 1

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

KAPITEL 2

METHODIK

2.1. EINFACHE RADIALE IMMUNODIFFUSION NACH MANCINI

- 2.1.1. Prinzip der Methode
- 2.1.2. Auswahl der Platten
- 2.1.3. Durchführung der Methode
 - 2.1.3.1. Beschicken der Platten
 - 2.1.3.2. Trocknen und Färben
 - 2.1.3.3. Konzentrationsbereiche
 - 2.1.3.4. Auswertung
- 2.1.4. Präzision der Methode

2.2. ELEKTROIMMUNODIFFUSION NACH LAURELL

- 2.2.1. Prinzip der Methode
- 2.2.1. Geräte
- 2.2.3. Reagenzien
- 2.2.4. Durchführung der Methode
 - 2.2.4.1. Herstellung der Gelplatten
 - 2.2.4.2. Beschicken der Platten
 - 2.2.4.3. Elektrophoresebedingungen
 - 2.2.4.4. Trocknen und Färben
 - 2.2.4.5. Auswertung
- 2.2.5. Präzision der Methode

2.3. RADIOIMMUNOASSAY

- 2.3.1. Prinzip der Methode
- 2.3.2. Material
- 2.3.3. Durchführung der Methode
- 2.3.4. Auswertung
 - 2.3.4.1. Zeichnerische Auswertung
 - 2.3.4.2. Rechnerische Auswertung
- 2.3.5. Präzision der Methode
 - 2.3.5.1. Kenngrößen der Regressionsgeraden
 - 2.3.5.2. Fehlerbreite

- 2.4. VERGLEICH DER VERWENDETEN METHODEN
- 2.4.1. Vergleich der einfachen radialen Immunodiffusion mit der Elektroimmundiffusion
- 2.4.2. Vergleich der einfachen radialen Immunodiffusion mit den radioimmunologischen Bestimmungen
- 2.5. BESTIMMUNG DER RELATIVEN CLEARANCE DER SERUMPROTEINE
- 2.5.1. Definition
- 2.5.2. Geräte
- 2.5.3. Konzentrierung
- 2.5.4. Protein- und GE-Bestimmung im Serum und Urinkonzentrat
- 2.5.5. Berechnung der Proteinclearance
- 2.6. STATISTISCHE METHODEN

K A P I T E L 3

UNTERSUCHTES MATERIAL

- 3.1. AFP IM SERUM EINES NORMALKOLLEKTIVS
- 3.2. AFP IM NABELSCHNURSERUM
- 3.2.1. AFP im Nabelschnurserum reifer Neugeborener
- 3.2.2. AFP im Nabelschnurserum unreifer Neugeborener
- 3.2.3. AFP im Nabelschnurserum von Risikoneugeborenen
- 3.2.4. AFP im Nabelschnurserum überreifer Neugeborener
- 3.3. AFP IM SERUM NORMAL UND PATHOLOGISCH VERLAUFENDER SCHWANGERSCHAFTEN
- 3.4. AFP IM SERUM VON FRAUEN POST PARTUM
- 3.5. BESTIMMUNG VON AFP, ALBUMIN, TRANSFERRIN, IG G UND GESAMTEIWEISS IM SERUM UND URINKONZENTRAT SCHWANGERER
- 3.6. AFP IM FRUCHTWASSER
- 3.7. AFP BEI HODENTUMOREN
- 3.8. AFP BEI GYNÄKOLOGISCHEN TUMOREN

K A P I T E L 4

ERGEBNISSE ZUM KLINISCHEN TEIL

- 4.1. AFP BEI NORMALPERSONEN
- 4.2. AFP IM NABELSCHNURSERUM
 - 4.2.1. AFP im Nabelschnurserum reifer Neugeborener
 - 4.2.2. AFP im Nabelschnurserum unreifer Neugeborener
 - 4.2.3. AFP im Nabelschnurserum von Risikoneugeborenen
 - 4.2.4. AFP im Nabelschnurserum von überreifen Neugeborenen
 - 4.2.5. Vergleich der AFP-Konzentrationen reifer, unreifer, Risiko- und überreifer Neugeborener
 - 4.2.6. Beziehung zwischen AFP und Gestationsalter
 - 4.2.7. Beziehung zwischen AFP und Geburtsgewicht
- 4.3. QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON ALBUMIN, COERULOPLASMIN, α_2 - MARKOGLOBULIN, TRANS-FERRIN, IG G UND GESAMTEIWEISS IM NABEL-SCHNURSERUM
 - 4.3.1. Beziehung zwischen AFP und den übrigen Serumproteinen
- 4.4. AFP IN DER SCHWANGERSCHAFT
 - 4.4.1. AFP bei normal verlaufender Schwangerschaft
 - 4.4.2. AFP bei Risikoschwangerschaften
- 4.5. BERECHNUNG DER HALBWERTSZEIT DES AFP
- 4.6. CLEARANCEBESTIMMUNGEN
- 4.7. AFP IM FRUCHTWASSER
 - 4.7.1. AFP im Fruchtwasser normal verlaufender Graviditäten
 - 4.7.2. AFP im Fruchtwasser von RH-immunisierten Schwangerschaften
 - 4.7.3. AFP im Fruchtwasser bei sonstigen Erkrankungen
- 4.8. BESTIMMUNG DES AFP BEI HODENTUMOREN
 - 4.8.1. AFP bei Teratomen
 - 4.8.2. AFP bei Seminomen
 - 4.8.3. AFP bei anderen Hodentumoren
- 4.9. AFP BEI GYNÄKOLOGISCHEN TUMOREN

K A P I T E L 5

DISKUSSION

- 5.1. DISKUSSION DER METHODISCHEN ERGEBNISSE
- 5.2. DISKUSSION DER KLINISCHEN ERGEBNISSE
 - 5.2.1. AFP bei Normalpersonen
 - 5.2.2. AFP und andere Serumproteine im Nabelschnurblut
 - 5.2.3. AFP im Serum Schwangerer
 - 5.2.4. AFP im Fruchtwasser
 - 5.2.5. AFP bei Hodentumoren und gynäkologischen Tumoren

K A P I T E L 1

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Ein immunologischer Aspekt in der Cancerogenese wurde durch die Erkenntnis aufgeworfen, daß viele experimentelle und einige sich spontan entwickelnde Tumoren Antigendifferenzen gegenüber den Wirtszellen aufweisen. Setzt man voraus, daß Malignome ein von Normalgewebe unterschiedliches Antigen-Profil besitzen, müßte der Organismus mit einer Antikörper-Reaktion antworten, die die Vernichtung der Tumorzellen bewirken würde. Es liegt daher nahe, das Wuchern von Tumoren als Ausdruck eines immunologischen Versagens vonseiten des Organismus zu interpretieren.

Das Vorkommen neuer Transplantationsantigene auf der Oberfläche virusinduzierter Geschwulst-Zellen ist seit längerer Zeit bekannt. (64a) Alle durch ein und dasselbe Virus hervorgerufenen Tumoren tragen dabei das gleich für diesen Typ spezifische Oberflächenantigen (TSTA = TUMORSPEZIFISCHES TRANSPLANTATIONSANTIGEN (56, 75)), das wahrscheinlich auf den Einbau viraler DNA in das Genmaterial zurückzuführen ist und deshalb bei jeder Mitose reproduziert wird. Chemisch induzierte Geschwülste zeigen im allgemeinen individuelle TSTA, die keinerlei Kreuzreaktionen erkennen lassen. Neben diesen durch virale Infizierung sich entwickelnden Antigentypen wurde durch zahlreiche experimentelle Studien das Vorhandensein TUMORASSOZIIERTER ANTIGENE bei Neoplasmen der verschiedensten Organe nachgewiesen (38, 45, 50, 51, 153, 160). Hierzu zählt die Gruppe der CARCINOFETALEN ANTIGENE, die in der Embryonalzeit im Gewebe derselben Spezies gebildet werden, deren Produktion in der ausgereiften Zelle jedoch normalerweise unterdrückt und im Erwachsenenalter nur noch in sehr geringen Konzentrationen nachweisbar ist (9, 33, 36, 37, 72, 114, 120). Alphafetoprotein ist der am längsten und besten bekannte Vertreter dieses Antigentyps.

Es wurde von BERGSTRAND und CZAR (19, 20) und später von anderen Autoren zuerst im fetalen menschlichen Serum beobachtet. 1963 entdeckten ABELEV und Mitarbeiter (1) ein fetales α_1 -Globulin im Serum erwachsener Mäuse und Ratten nach Hepatektomie und bei Trägern von von transplantierbaren Hepatomen. TATARINOV (196, 197, 198) wies erstmalig das entsprechende Alphafetoprotein bei Patienten mit primären Leberzellkarzinom nach. ABELEV und Mitarb. gelang es schließlich, dasselbe α_1 -Globulin bei Patienten mit malignem Teratoblastom des Hodens und des Ovars zu identifizieren. Über das Verhalten des

AFP nach Teilresektion der menschlichen Leber (109, 131a), sowie anderen Leberaffektionen wie Hepatitis und Zirrhose (170, hier auch weitere Literatur) wurde mittlerweile berichtet.

Humanes Alphafetoprotein wird von der fetalen menschlichen Leber, dem Dottersack und dem fetalen Gastrointestinaltrakt gebildet (57a, 70, 70a, 71a, 122, 155a). Einigen anderen Autoren gelang zudem der Nachweis des AFP in plazentären Strukturen (62a). Alphafetoprotein wird ab der 4. Entwicklungswoche im Embryo nachweisbar (157a) und erreicht ein Konzentrationsmaximum zwischen der 13. und 15. Fetalwoche (70, 175). Ein ähnliches Absinken des fetalen AFP-Spiegels gegen das Ende der intrauterinen Entwicklungsperiode wird nach der Geburt von einem steilen Konzentrationsabfall gefolgt, so daß Alphafetoprotein ab der 5. Lebenswoche normalerweise nur noch mit feinsten Bestimmungsmethoden nachgewiesen werden kann (34a, 176a). Sowohl in der Leberparenchymzelle des Feten und des Neugeborenen als auch in den Tumorzellen von Patienten mit primärem Leberzellkarzinom konnte AFP mittels Immunfluoreszenz beobachtet werden (108). Beim fetalen Hepatozyten lag AFP diffus intrazytoplasmatisch, bei Hepatomzellen fand sich eine zusätzliche Anreicherung in der Zytoplasmamembran und in den perinukleären Zonen (55, 57a, b, 122, 147 a, b, 155b).

Eine Erklärung für das Wiederauftreten des Alphafetoprotein bei Patienten mit Terato-Karzinom und Hepatom wird durch die Erstellung drei verschiedener Hypothesen versucht:

1. ABELEV (3, 2, 4) nimmt die Persistenz spezieller Hepatoblasten beim Hepatom bzw. Dottersack-Endodermähnliche Zellen beim Teratom an (6, 23, 104, 201).
2. URIEL erklärt die vermehrte AFP-Produktion durch Rückdifferenzierungsvorgänge des Hepatozyten (202a, b).
3. GRABAR nimmt die Depression eines Repressorgens als Ursache für die Neosynthese des Alphafetoproteins an (74a).

Bei entzündlichen Leberzellerkrankungen, die ebenfalls mit einer AFP-Erhöhung einhergehen (170) werden Regenerationsvorgänge für eine erneute Synthese des Proteins verantwortlich gemacht. ISHII (92) sieht darin eine reversible Veränderung im Gegensatz zu einer irreversiblen bei der tumorösen Veränderung des Hepatozyten.

Mit verfeinerten radioimmunologischen Bestimmungsmethoden wurde schließlich auch bei gesunden Erwachsenen AFP-Werte zwischen 2 und 16.5 mg/ml gefunden (164, 180). In höheren Konzentrationen liegt AFP physiologischerweise im Serum Schwangerer vor (4, 46, 62, 167). Eine rasche diaplazentäre Diffusion des im Feten gebildeten Proteins wurde tierexperimentell (25a, 173a) beobachtet und auch beim Menschen als Erklärung dieser Tatsache angenommen.

Physiko-chemisch handelt es sich beim fetalen humanen AFP und beim Tumor-AFP um ein Glykoprotein mit elektrophoretischer α_1 - Mobilität. Sein Molekulargewicht wird zwischen 61000 und 75000 angegeben (108), der Sedimentationskoeffizient mit 4.5 - 5.5. Der isoelektrische Punkt des Proteins liegt zwischen pH 4.7 und 5, sein Diffusionskoeffizient beträgt $6.18 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$. ABELEV wies auf eine Ähnlichkeit des Alphafetoproteins mit Albumin hin.

Nach bisherigen Mitteilungen scheint die Bestimmung des Alphafetoproteins für die Diagnostik der Risikoschwangerschaft von Bedeutung zu sein, obgleich widersprüchliche Angaben vorliegen. - Die serologische Bestimmung des AFP bei Patienten mit Hodentumoren wurde bisher mit Immundiffusionsmethoden durchgeführt, radioimmunologisch ermittelte Werte liegen kaum vor.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch eigene Untersuchungen unter Analyse der Literatur Stellung zu beziehen zu folgenden Fragen:

1. das Verhalten von AFP im Serum Neugeborener unterschiedlicher Reifegrade, sowie bei Risikoneugeborenen.
2. die Bestimmung des AFP im Verlauf der normalen Gravidität und der Risikoschwangerschaft,
3. die Bedeutung des AFP in der Diagnostik, Differentialdiagnose und Therapiekontrolle von Malignomen des Hodens und des Ovars,
4. die Ermittlung der biologischen Halbwertszeit des Alphafetoproteins
5. Clearance-Bestimmung des AFP.

K A P I T E L 2

M E T H O D E N

2.1. EINFACHE RADIALE IMMUNDIFFUSION NACH MANCINI
ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON SERUMPROTE-
INEN UND ALPHAFETOPROTEIN.

2.1.1. Prinzip der Methode

Gelöste Antigenmoleküle wandern von einem zylinderförmigen Startloch aus radial in eine mit spezifischem homologen Antiserum vermischte Agargelschicht. Dabei bildet sich ein mit der Zeit konzentrisch wachsender Präzipitationszylinder aus. Die Diffusion ist beendet, wenn alles diffundierende Antigen vom spezifischen Antikörper gebunden ist. Die kreisförmige Grundfläche des Zylinders steht nach Erreichen des stabilen Gleichgewichts in direkt linearer Beziehung zur Menge des Antigens bei vorgegebener Antikörperkonzentration.

Der Ordinatenabschnitt A ist nach MANCINI (126) eine Funktion der Auftragsstelle: je größer das Antigenreservoir, desto größer der Wert A. Die Steigung B verhält sich umgekehrt proportional zur Antikörperkonzentration in der Agargelschicht.

Die Zeit bis zum Erreichen des stabilen Gleichgewichts hängt ab erstens von der Molekülgröße des zu untersuchenden Proteins, d.h. von seinem Diffusionskoeffizienten, und zweitens von der Reaktionstemperatur: je höher die Temperatur, um so schneller der Reaktionsablauf. Wegen eventueller Hitzelabilität der reagierenden Proteine sollte man jedoch Temperaturen über 37° C meiden.

2.1.2. Auswahl der Platten

Für die Bestimmung von Albumin, α_2 -Makroglobulin, Coeruloplasmin, Transferrin, Immunglobulin G und AFP im Konzentrationsbereich zwischen 5 und 28 mg% wurden die handelsüblichen Platten⁺ verwendet.

Da der Standardkonzentrationsbereich der üblicherweise für die AFP-Bestimmung verwendeten M-Partigenplatten⁺ sich nur bis zu einem sicher ablesbaren unteren Grenzwert von 5 mg% erstreckte, suchten wir nach einer einfachen und rationellen Methode, die Analysenproben, deren AFP-Gehalt unter diesem Wert zu liegen kam, zu bestimmen.

⁺ Fa. Behringwerke, Marburg/Lahn

⁺⁺ Fa. Serva, Heidelberg

Korrelationskoeffizient

$$r = \frac{\sum xy - N\bar{x}\bar{y}}{\sqrt{(\sum x^2 - N\bar{x}^2)(\sum y^2 - N\bar{y}^2)}}$$

$$-1 \leq r \leq 1$$



$$F = \pi r^2 = \frac{\pi}{4} d^2$$

d: innerer Durchmesser

D: äußerer Durchmesser

F_p: terminale Präzipitatsfläche

$$F_p = F_{pD} - F_{pd}$$

$$= \frac{\pi}{4} (D^2 - d^2)$$

Abbildung 1

Da die Größe des sich bei der radialen Diffusion in das Antikörperhaltige Gel bildenden Präzipitationszylinders in umgekehrt proportionalem Verhältnis zum Antikörpergehalt im Agar steht, stellten wir folgenden Versuch an: Sechs 9 x 11 cm messende Glasplatten wurden mit Gelgemischen verschiedener Antikörperkonzentrationen beschichtet. 15 ml 1 - 1.5 %iger Agar purum wurden mit 75, 120, 150, 300, 450 und 750 Mikroliter Alpha₁-Feto-Antiserum von Kaninchen + glei-

Standardgerade (lin. Regressionsgerade)

$$y = A + Bx \quad (y: \text{Präzip. Fläche in mm}^2)$$

$$x: \text{Konzentr. in mg \%}$$

$$A = \bar{y} - B\bar{x}$$

$$B = \frac{\sum xy - N\bar{x}\bar{y}}{\sum x^2 - N\bar{x}^2}$$

$$x = -\frac{A}{B} + \frac{1}{B} y$$

Konz. Fläche



$$d = b - a \quad D = c$$

$$F_p = \left[\frac{\pi}{4} c^2 - (b-a)^2 \right]$$

$$\bar{F}_p = \frac{F_{p1} + F_{p2}}{2} = \frac{\sum_{i=1}^n F_{pi}}{N}$$

cher Charge gleichmäßig vermischt.

In genügend großen Abständen wurden mit einer 2,5 mm durchmessenden Stanzkanüle Einfüllreservoirs geschaffen. Mit einem Alpha₁-Feto-Standardserum⁺ stellten wir eine Verdünnungsreihe her, deren oberer und unterer Grenzwert bei 6.25 bzw. 0.5 mg% lag.

2.1.3. Durchführung der Methode

2.1.3.1. Beschicken der Platten

In jede der Auftragsstellen sowohl der handelsüblichen⁺, als auch der selbst hergestellten Platten wurde mit Hilfe einer HAMILTON Mikroliterspritze mit zusätzlicher Dosiervorrichtung je 5 Mikroliter der Standard- bzw. Analysenlösung eingefüllt. Zur Erstellung der Bezugskurve benutzten wir pro Platte 3-4 verschiedene Standardverdünnungen. Die gut verschlossenen Partigen-Platten wurden bei Raumtemperatur auf einer horizontalen Unterlage ca. 48 h aufbewahrt, die eigenen Gelplättchen lagerten wir ca. 12-15 h in einer feuchten Kammer. Die nach Erreichen der Enddiffusion sich bildenden Präzipitationsringe waren im Unterschied zu den gut auszumessenden Grundflächen auf den Partigen-Platten im Dunkelfeld nur schwach sichtbar, sodaß wir diese anfärben mußten.

2.1.3.2. Trocknen und Färben der eigenen Diffusionsplatten

<u>Färbelösung</u>	50 g Coomassie Brilliant Blue R ⁺⁺
	4.5 l Äthanol 96%
	1.0 l Eisessig
	4.5 l dest. Wasser

<u>Lösungsmittel zum Entfärben</u>	4.5 l Äthanol 96%
	1.0 l Eisessig
	4.5 l dest. Wasser

Nach Beendigung der Diffusion wurden die beschichteten Platten zunächst mit einer Filterpapierschicht bedeckt. Man sollte dabei die Bildung von Luftblasen vermeiden. Auf das Filterpapier legten wir eine 2 cm dicke Zellstoffschicht, die mit einem Gewicht von ca. 1 kg belastet wurde. Auf diese Weise wurde ein Großteil der Gelflüssigkeit innerhalb 15 min ausgepresst.

Anschließend wässerten wir die Gelplatte in 0.9 % Kochsalzlösung, die nach 15 min erneuert wurde, um die übriggebliebenen ungebundenen Proteine aus dem Agar zu entfernen. Im Anschluß wurden die

⁺⁺ Fa. Serva, Heidelberg

⁺ Fa. Behringwerke Marburg/Lahn

Platten mit Filterpapier abgedeckt und getrocknet.

Zur Färbung verwendeten wir die oben beschriebene Lösung. Die beschichteten Platten verblieben 15 min im Farbebad. Der überschüssige Farbstoff wurde im Anschluß daran in der beschriebenen Entfärbelösung stufenweise ausgewaschen. Farbebad und Entfärbelösung konnten mehrmals verwendet werden.

2.1.3.3. Konzentrationsbereiche

Die geeigneten Konzentrationen für die unterschiedlichen Proteine gehen aus der angeführten Tabelle hervor.

Albumin	526 - 175.33 mg%	
Alpha ₂ -Makrogl.	235 - 60.00 mg%	
Coeruloplasmin	24 - 6.00 mg%	
Transferrin	68 - 17.00 mg%	
Ig G	191 - 43.00 mg%	
Alpha-Fetoprotein	28 - 5 mg%	(handelsübliche Platten)
	6.25 - 0.5 mg%	(eigene Platten)

2.1.3.4. Auswertung

Üblicherweise wird nach Erreichen des Diffusionsgleichgewichtes mit Hilfe eines Messmikroskopes oder einer Messschablone der genaue Durchmesser der Präzipitationsringe D ausgemessen (Abb.1). Auf linearem Millimeterpapier wird das Quadrat des Durchmessers (Ordinate) als Funktion der Standardlösungen (Abszisse) aufgetragen. Durch die so erhaltenen Punkte wird eine Gerade gelegt. Anhand dieser Bezugskurve können nun Konzentrationen von Analysenproben innerhalb der niedrigsten und höchsten Standardpunkte abgelesen werden. Liegen die Konzentrationen oberhalb des Messbereichs, so sind die Bestimmungen in geeigneter Verdünnung zu wiederholen. Liegen die Konzentrationen unterhalb des niedrigsten Standardpunktes muß man andere quantitative Bestimmungsmethoden ergreifen.

Wir ermittelten die exakte Präzipitationsfläche durch Ausmessen der Teilstrecken des Durchmessers a, b, c und der senkrecht dazu stehenden Streckenabschnitt a', b', c'. Diese Werte wurden in ein Auswertformular zusammen mit den Konzentrationen der Standardverdünnungen bzw. den Bezeichnungen und den Verdünnungsfaktoren der Probenlösungen eingetragen. Die Ausmessung erfolgte mit Hilfe eines Leitz Messmikroskopes und eigenem Dunkelfeldadapter. (107)

Die zwangsläufig subjektive Anpassung der Bezugskurve an die ermittelten Standardpunkte umgingen wir durch rechnerische Ermittlung der linearen Regressionsgeraden nach dem Prinzip der kleinsten Abwei-

chungsquadrate (107). Den Korrelationskoeffizienten r , den Ordinatenquerschnitt A , die Steigung B und die Standardfehler der y - Schätzung errechneten wir mit einem Olivetti Tischcomputer P 101 bzw. einer Burroughs C 7200. (107) Pro Präzipitat werden zwei Flächenwerte errechnet, gemittelt und zusammen mit den Standardserumkonzentrationen eingegeben. Die Kenngrößen A und B der Regressionsgeraden werden daraus errechnet und zusammen mit dem Korrelationskoeffizient r und der Standardabweichung der y - Schätzung $s_{y.x}$ ausgedruckt. Die Werte A und B werden zur weiteren Berechnung von Ordinatenbeispielen gespeichert.

Ob die ermittelte Regressionsgeradengleichung akzeptabel ist, wird anhand des Korrelationskoeffizienten r , sowie der nach Eingabe der gemittelten Präzipitationsflächen ausgedruckten Standardkonzentrationen im Vergleich mit den Ausgangskonzentrationen entschieden. Dabei sind die Abweichungen voneinander um so geringer je größer der Korrelationskoeffizient.

Nun werden die von den Probenlösungen gemessenen Streckenabschnitte a, b, c , und a', b', c' eingegeben, die Präzipitationsflächen P_1, P_2 und $\bar{P}$ ermittelt und nach Eingabe des zugehörigen Verdünnungsfaktors die endgültige Konzentration berechnet.

Die Kenngrößen der Regressionsgeraden, die wir für verschiedene Antikörpergehalte auf unseren eigenen Diffusionsplatten ermittelten, sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es erschien uns am günstigsten, bei Verwendung derselben Antikörpercharge, einen AK-Konzentration zwischen 1 und 2% zu wählen. (Abb. 2)

2.1.4. PRÄZISION DER METHODE NACH MANCINI

Um die Reproduzierbarkeit der auf den Immundiffusionsplatten der Fa. Behringwerke ermittelten Messwerte zu überprüfen, fertigten wir Mehrfachbestimmungen ein und derselben Serumproben auf je einer M-Partigenplatte an. Die Analysen wurden dabei von uns so gewählt, daß die Proteinkonzentrationen der unverdünnten Proben mit Sicherheit innerhalb unseres Messbereichs zu liegen kamen. Auf diese Weise schlossen wir einen etwaigen Verdünnungsfehler aus. Wir überprüften die Alphafetoproteinspiegel in drei verschiedenen Nabelschnurseren und erhielten folgende Ergebnisse.

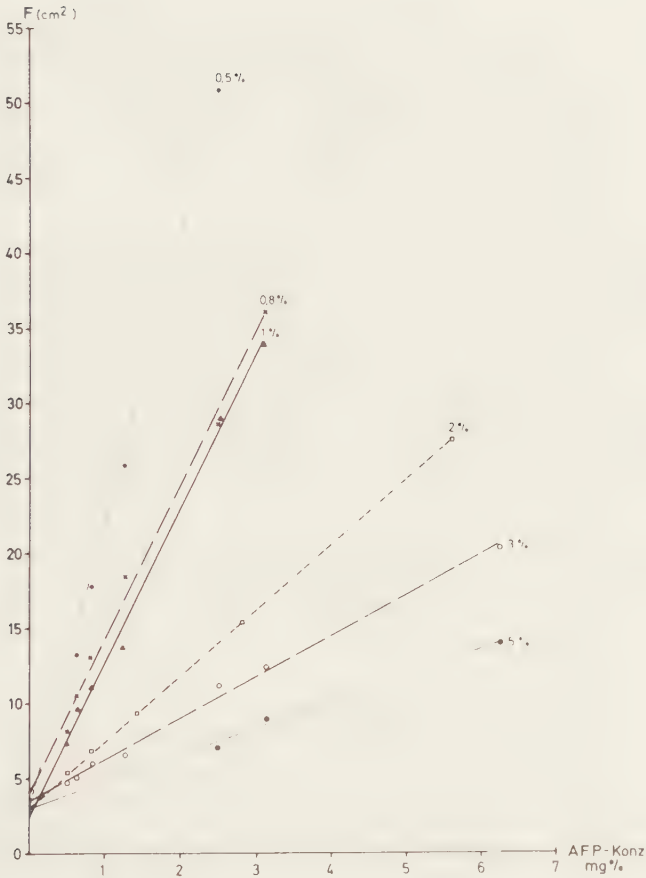


ABBILDUNG 2

Lineare Beziehung der mittels einfacher radialer Immunodiffusion auf eigenen Platten erhaltenen terminalen Präzipitatsflächen zur verwandten AFP-Standard-Konzentration.

Abhängigkeit der Steigung der Standard-Geraden vom Antikörpergehalt der Platte (0,5 - 5%).

F = terminale Präzipitatsfläche (in mm^2)

Tabelle 1

VARIABLER ANTIKÖRPERGEHALT BEI EIGENEN DIFFUSIONSPLATTEN

AK Gehalt %	r	$s_{y \cdot x}$	A	B	Konzentr. bereich
0.5	0.997505	1.248290	3.4025	18.8446	2.5 - 0.5 mg%
0.8	0.995164	1.220292	4.1852	10.1723	3.125 - 0.5 mg%
1.0	0.996015	1.095594	2.54784	10.0670	3.125 - 0.5 mg%
2.0	0.999936	0.151522	2.93109	4.4186	5.6 - 0.5 mg%
3.0	0.997983	0.397523	3.50028	2.76912	6.25 - 0.5 mg%
5.0	0.994320	0.555357	2.7993	1.8261	6.25 - 2.5 mg%

Serum-bezeichn.	n	$\bar{x}$ AFPmg%	Bereich	Streuung s	Variations- koeff. V %
I	6	11.4047	11.16-11.63	0.1808	1.5853
II	5	6.8774	6.46- 7.157	0.3360	4.8856
III	6	15.686	15.485-15.996	0.2133	1.3597

Der gemittelte Korrelationskoeffizient der entsprechenden errechneten Regressionsgeraden betrug 0.9995 bei einem mittleren Standardfehler der y-Schätzung von 0.5426. Die Kenngrößen A (Ordinatenschnittpunkt) und die Steigung B lagen im Mittel bei 4.8380 bzw. 1.4648

Die Messdifferenzen einer Serumprobe auf verschiedenen Immundiffusionsplatten erfassten wir indem wir Serum Nr. I, II und III auf je 10 unterschiedlichen M-Partigenplatten bestimmten. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Serum-bezeichn.	n	$\bar{x}$ AFPmg%	Bereich	Streuung s	Variations- koeff. V %
I	10	10.90891	9.789 -11.694	0.743	6.811
II	10	6.612	6.056 - 7.143	0.3583	5.4187
III	10	14.737	12.785 -16.614	1.0632	7.214

Bei diesen Untersuchungen lagen die gemittelten Korrelationskoeffizienten und der mittlere Standardfehler der y-Schätzung der zehn errechneten Regressionsgeraden bei 0.9992 bzw. 0.6110. Der Ordinatenschnittpunkt A betrug im Mittel 5.4470, die Steigung B 1.5766.

Vergleichen wir Streuungen und Variationskoeffizienten der beiden Untersuchungen, so liegen diese Werte erwartungsgemäß innerhalb einer Platte unter denen, die sich aus den Messwerten errechnen, die auf verschiedenen Partigenplatten ermittelt wurden.

2.2. ELEKTROIMMUNDIFFUSION NACH LAURELL

Bestimmung von Alpha₁ - Fetoprotein

2.2.1. Prinzip der Methode

Bei seiner Wanderung im elektrischen Feld hinterläßt ein Antigen ein langgestrecktes Immunpräzipitat, wenn das Agargel gleichmäßig verteilt das entsprechende monospezifische Antiserum enthält. Die Länge des Präzipitats verhält sich direkt proportional zur Menge des Antigens, vorausgesetzt die Einfüllvolumina sind gleich.

Mit dieser Methode sind alle Proteine bestimmbar, deren elektro-phoretische Beweglichkeit sich von der Beweglichkeit des im Agargel enthaltenen Antikörper unterscheidet. Durch Pufferung bei pH 8.6 wird die elektrische Ladung der Proteine so verändert, daß diese ausschließlich in Richtung Anode wandern. Die Präzipitationszacken bilden sich entsprechend der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit der Proteine unterschiedlich rasch aus. Auch beeinflussen der pH der verwendeten Pufferlösung sowie die angelegte Feldstärke die Wanderungsgeschwindigkeit.

2.2.2. Geräte

Wir verwendeten für unsere Untersuchungen die handelsüblichen Geräte der Fa. Behringwerke.

2.2.3. Reagenzien

Barbitalpuffer pH 8.6

41.2 g Barbital-Natrium (5,5 - Diäthylbarbitursäure-Natrium-Salz)

8.0 g Barbital (5,5 - Diäthylbarbitursäure mit destilliertem Wasser
10 l auffüllen. Die Ionenstärke μ dieses Puffers beträgt 0.02.

Färbelösung

50 g Coomassie Brilliant Blue R⁺⁺

4.5 l Äthanol 96 %

1.0 l Eisessig

4.5 l dest. Wasser

Lösungsmittel zum Entfärben des Untergrundes

4.5 l Äthanol 96%

1.0 l Eisessig

4.5 l dest. Wasser

⁺⁺ Fa. Serva, Heidelberg

2.2.4. Durchführung der Methode

2.2.4.1. Herstellung der Gelplatten

Eine 1 - 1,5 %ige Lösung aus Agar purum (Fa. Behringwerke) wurde unter Verwendung von Barbitalpuffer pH 8,6 hergestellt. Dabei rührt man in 500 ml Pufferlösung mit Hilfe eines Glasstabes 5 mg Agar ein, läßt die Mischung unter gelegentlichem Umrühren zum Sieden kommen und wartet ab, bis sich die Lösung klärt. Die Zugabe eines Konservierungsmittels zu der noch flüssigen Gelmasse erwies sich als zweckmäßig (Cialit R⁺ eine Spatelspitze auf 500 ml Lösung), um das Wachstum von Mikroorganismen zu hemmen.

Eine rationellere Arbeitsweise erzielten wir dadurch, daß wir uns von Zeit zu Zeit größere Mengen dieser Lösung zubereiteten.

Die Reagenzröhrchen bewahrten wir bei 4° C auf und erhitzten bei Bedarf die benötigte Menge erneut im Wasserbad.

Das Zumischen des Antiserums für die Herstellung der Antikörperhaltigen Gelplatten erfolgte bei Temperaturen von 50 - 56° C.

Zu diesem Zweck wurde die heiße Agarlösung im Wasserbad gleichmäßig auf diese Temperatur abgekühlt. 15 ml Agargel setzten wir 150 Mikroliter Alpha₁-Feto-Antiserum vom Kaninchen⁺⁺ zu. Um die Bildung von störenden Luftblasen beim Mischen der Bestandteile zu vermeiden, wurde das Glas luftdicht abgeschlossen und mehrmals vorsichtig gekippt. Im Anschluß daran gossen wir 15 ml der noch flüssigen Gelmasse auf 9 x 11 cm messende Glasplatten, die zur exakten Nivelierung auf einen Horizontaltisch vorbereitet wurden. Auf diese Weise erzielten wir eine gleichmäßige Schichtdicke von ca. 1,5 mm. Nach dem Erstarren des Agars wurden unter Benutzung einer 2,5 mm durchmessenden Stanzkanüle, die wir an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen hatten, und unter Zuhilfenahme einer Stanzschablone 18-20 Auftragsstellen in die Gelschicht eingestantzt. Der Abstand der Einfüllvolumina sollte mindestens 5 mm betragen. Vom unteren Glasplattenrand waren die Einfüllreservoirs ca. 2 cm entfernt. Pro Platte stellten wir 5-6 verschiedene Standardverdünnungen her, die einen Messbereich von 12,5 - 0,833 mg/100 ml abdeckten.

2.2.4.2. Beschicken der Platten

Die Probandenlösungen verdünnten wir im Verhältnis 1:2 mit physiol. Kochsalzlösung. In jede der Auftragsstellen wurde nun mit einer Hamilton Mikroliterspritze exakt 5 Mikroliter der Standard- bzw. der Analysenlösungen eingefüllt. Um eine unerwünschte radiale Vordiffu-

+ Fa. ASID Bonz u. Sohn GmbH Lohof b. München

++ Fa. Behringwerke, Markburg/Lahn

sion zu vermeiden, erwies es sich als günstig, die Glasplatten auf die Träger der Elektrophoresekammer zu legen, mit Hilfe von ca. 1 mm dickem Filterpapier den Kontakt zu den Puffertrögen herzustellen, das Gerät in Betrieb zu setzen und erst dann mit dem Beschicken der Platten zu beginnen. Es ist wichtig, die Filterpapierstreifen exakt auf die Breite der Gelplatten zuzuschneiden, da sonst schiefe Präzipitationszacken entstehen.

2.2.4.3. Elektrophoresebedingungen

Die Betriebsspannung der Elektrophoresekammer betrug 110-120 Volt, die Feldstärke 4 V / cm, die Trennzeit 12-18 Stunden, die Stromstärke lag bei ca. 10 mA.

Während der Elektrophorese ist eine Kühlung notwendig, um das von Laurell (113) beschriebene Tunnelphänomen zu unterbinden. Darunter versteht man die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit des Proteins in der Gelschicht, und zwar derart, daß an der Gel/Glas-schicht das Protein schneller wandert als an der Geloberfläche. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich darin, daß bei Erwärmung des Gels Wasser verdampft und somit die Ionenstärke an der Geloberfläche zunimmt.

2.2.4.4. Trocknen und Färben

Nach beendeter Elektrophorese führten wir Trocknung und Färben der Gelplättchen wie unter 2.1.3.2. angegeben aus.

2.2.4.5. Auswertung

Die Ausmessung der Präzipitationszacken von der Auftragsstelle zur Spitze kann unmittelbar anschließend an die Elektrophorese erfolgen. Für die Messung benutzten wir einfaches Millimeterpapier mit 1/10 mm Genauigkeit. Trägt man die Länge der Präzipitationszacken als Funktion der Standardkonzentrationen in ein Koordinatensystem ein, so resultiert daraus eine nahezu geradlinig verlaufende Bezugskurve, über die man die Messwerte der Analysenlösungen unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors errechnen kann.

Um auch hier wiederum möglichst objektive Messergebnisse zu erzielen, ermittelten wir mit Hilfe eines eigenen Rechenprogramms auf dem Tischcomputer Burroughs C 7200 die Regressionsgerade. Die Kennwerte A (Ordinatenschnittpunkt) und B (Steigung) wurden ausgedruckt und gespeichert; zusätzlich wurde der Korrelationskoeffizient r zusammen mit der Standardabweichung der y -Schätzung errechnet. Der Vergleich der Ausgangskonzentrationen der Standardlösungen mit den vom Rechner automatisch wiedergegebenen tatsächlichen

Konzentrationen zusammen mit dem Korrelationskoeffizienten sind die Kriterien für die Verwendbarkeit der Standardgeraden. Nun wird wiederum die Länge der Präzipitationszacken der Analysen in den Rechner gegeben und unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors die Endkonzentration errechnet.

2.2.5. Präzision der Elektroimmundiffusion nach LAURELL

Die unter 2.1.2. beschriebene Gelelektrophorese nach Laurell prüften anhand von 5 verschiedenen Serumproben, die wir im Verhältnis 1:10 verdünnt hatten. Dieselben Analysenlösungen wurden auf einer anti-alpha-fetoprotein-haltigen Platte 8-9 mal aufgetragen. Die Messergebnisse waren folgende:

Serum-bezeichn.	n	$\bar{x}$ AFPmg%	Bereich	Streuung s	Variations- koeff. V %
1	8	3.325	2.7 -3.5	0.3285	9.8797
2	8	3.3238	2.89-3.59	0.2304	6.9318
3	8	3.200	2.83-3.59	0.3140	9.4578
4	9	2.9611	2.79-3.3	0.2216	7.4837
5	9	2.9344	2.85-3.04	0.1015	3.4590

Die Korrelationskoeffizienten der entsprechenden Regressionsgeraden betrugen dabei im Mittel 0.9956, der mittlere Standardfehler der y- Schätzung lag bei 0.9604, der Ordinatenschnittpunkt A und die Steigung B hatten einen gemittelten Wert von 4.8734 bzw. 2.3191.

Auch untersuchten wir 46 Serumproben je einmal in zwei verschiedenen Gelelektrophoresen. Wir stellten die Messergebnisse der verschiedenen AFP- Spiegel einander gegenüber und erhielten mittels Student-T-Test und Wilcoxon-Test für Paardifferenzen folgende Prüfgrößen:

Sign.	Koll. Nr.	n	$\bar{d}/x$	s	Variations- Koeffizient V%	t	R/s
nicht signifi- kant	1	9	-0.1666	0.1712	103.9	0.0577	2.88 normal verteilt
$p < 0.001$	2	13	-0.8123	0.4154	51.1	7.0503	nicht 3.65 normal verteilt
nicht signifi- kant	3	12	-0.0166	0.3537	2123	0.1632	nicht 3.67 normal verteilt
nicht signifi- kant (Wilcoxon)	4	12	0.2950	0.4575	155.0	2.2332	3.06 normal verteilt
$p < 0.05$							
$P < 0.001$	Ges.	46	0.2913	0.4980	171	3.9668	4.216 normal verteilt

Die Kontrollgruppen 1 und 3 erwiesen sich im Student -T- Test als nicht signifikant unterschiedlich. Kollektiv Nr.3 hatte einen p-Wert 0.05; die Nachprüfung im Wilcoxon-Test ergab jedoch keine signifikanten Paardifferenzen. Gruppe Nr.2 mit 13 Wertpaaren zeigt deutlich signifikante Unterschiede der Messergebnisse. Auch zeigen die 46 verbundenen Varianzen des Gesamtkollektivs mit einem $\hat{t}$ von 3.96 keine Gleichheit.

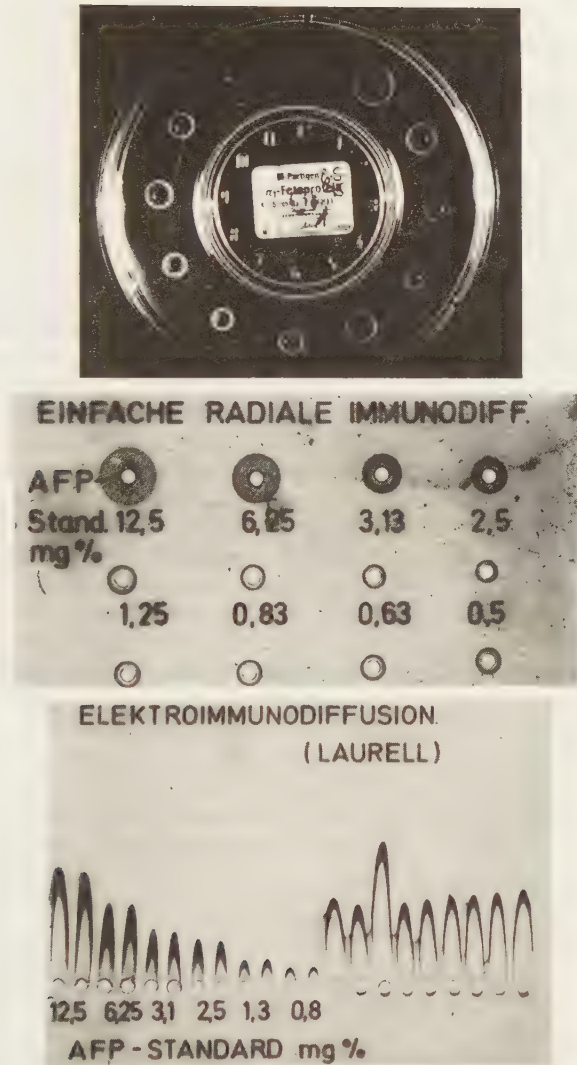


ABBILDUNG 2

Untersuchung von Serumproben (Nabelschnurserum) mittels einfacher radialer Immundiffusion auf kommerzieller (2a) oder eigener (2b) Platte und mittels Elektroimmundiffusion auf eigener Platte (2c).

2.3. RADIOIMMUNOLOGISCHE BESTIMMUNG VON ALPHA₁ - FETOPROTEIN

2.3.1. Prinzip der Methode

Die radioimmunologische Bestimmung des AFP stellt eine 500-1000 fache sensiblere Nachweismethode gegenüber den unter 2.1. und 2.2. beschriebenen Verfahren dar. Mit dem von uns verwendeten Test der Fa. Abbott wiesen wir Konzentrationen im Bereich von 320 - 5 ng/ml nach.

Das Prinzip dieses Tests beruht auf der doppelten Antikörpermethode. AFP reagiert im ersten Reaktionsschritt mit dem homologen Antiserum vom Kaninchen. Die zweite Reaktion findet zwischen dem hier als Antigen wirksamen Ig G des Antiserum des Kaninchens und dem gegen dieses Protein gerichteten spezifischen Antikörper von der Ziege statt. Auf diese Weise bildet sich ein abzentrifugierbares Immunpräzipitat. Eine exakte quantitative Konzentrationsbestimmung wird dadurch möglich, daß man in den ersten Reaktionsschritt eine stets gleichbleibende Menge radioaktiv (J^{125}) markiertes Alphafetoprotein zufügt. Um die Bindung mit dem ersten Antikörper konkurrieren dann das in der Standard- bzw. Analysenlösung enthaltene AFP und das radioaktive Fetoprotein. Dabei wird der Anteil der radioaktiven Alpha₁ - Fetoproteinbindung an den ersten Antikörper um so größer, je geringer der Gehalt von AFP in der Standard- bzw. der Probandenlösung. Dieser Bindungsanteil kann mit einem Gammazähler aus dem abzentrifugierten Antigen- 1. Antikörper- 2. Antikörperkomplex exakt ermittelt werden.

2.3.2. 2.3.2

Unsere radioimmunologischen Bestimmungen wurden mit einem Test der Fa. Abbott durchgeführt. Er bestand aus folgenden Reagenzien:

- 5.5 ml einer Alpha₁ - Fetoproteinlösung J^{125} . Die Gesamtaktivität liegt unter 0.5 Mikro Ci, der ph bei 8.6.
 - 5.5 ml erster Antikörper : Anti- AFP - Serum vom Kaninchen. Der erste Antikörper ist bereits im Verhältnis 1:60.000 verdünnt.
 - 5.5 ml Zweiter Antikörper : Antiserum von der Ziege gegen Kaninchen Ig G.
 - 10 ml Puffer: 0.5 M Boratpuffer ph 8.6 mit einem Zusatz von 2.5% bovinem Serumalbumin. Vor Testbeginn wird dieser im Verhältnis 1:5 mit 0.9 %iger Kochsalzlösung verdünnt.
 - 2.5 ml Pferdeserum
 - 2.0 ml AFP - Standard: 320 mg/ml AFP - Konzentration.
- Alle Lösungen sind mit 0.1 M Boratpuffer ph 8.6 mit Zusatz von 0.5% BSA hergestellt.

2.3.3. Ausführung des Radioimmunoassays

Vor Beginn des Tests bereiteten wir uns eine Standardverdünnungsreihe. Acht Reagenzgläser wurden fortlaufende nummeriert. Glas Nr. 1 wurde mit der Standardfetoproteinlösung gefüllt, Glas Nr. 2 bis 8 mit je 1 ml des im Verhältnis 1:5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Boratpuffer. Ein Milliliter der 320 mg/ml AFP enthaltenden Standardlösung wird aus Glas Nr. 1 in das zweite Röhrchen pipettiert, der Inhalt sorgfältig vermischt und die Verdünnungsschritte bis zum siebten Reagenzglas fortgeführt. Im achten Röhrchen verbleibt ausschließlich die Boratpufferlösung. Ein Konzentrationsbereich zwischen 320 und 5 ng/ml kann so erfasst werden. Wir bereiteten uns 50 Reaktionsgefäße, von denen die ersten 16 für die Doppelbestimmungen der Standardpunkte unserer Bezugskurve reserviert waren. Glas 17 mit 50 blieb für die Analysenproben. In die ersten 16 Röhrchen pipettierten wir je 0.4 ml Boratpuffer und je 0.1 ml Pferdeserum. Die restlichen Gefäße wurden mit jeweils 0.5 ml Puffer gefüllt. Wir fügten je 0.1 ml der Standard- bzw. der Analysenlösungen zu und versetzten dann jedes der Röhrchen mit 100 Mikrolitern radioaktiven Alphafetoproteins. Sämtliche Lösungen müssen sorgfältig gemischt werden. Im Anschluss daran werden zum Ablauf des ersten Reaktionsschrittes je 100 Mikroliter des ersten Antikörpers den Lösungen zugefügt. Wir bedeckten die Gefäße mit Parafilm, schüttelten die Gemische noch einmal und liessen die Reaktion über 24-48 Stunden bei 4°C ablaufen. Im Anschluß daran pipettierten wir in jedes der 50 Reaktionsgefäße 100 Mikroliter des Anti- Alphafetoprotein-Antiserums von der Ziege. Die Lösungen werden gemischt und nach weiterer Inkubation über 24 Stunden bei 4°C hat sich der Immunkomplex gebildet. Bei jedem von uns durchgeführten Test wurde ein Leerwert bestimmt. Die Gesamtaktivität (Totals) wurde in einem Röhrchen gemessen, das 0.5 ml Boratpuffer und 0.1 ml radioaktives Alphafetoprotein enthielt, der sog. N-Wert, als Ausdruck für die unspezifische Bindung, wurde in einem Gefäß ermittelt, das 0.5 ml Puffer, 0.1 ml radioaktives Fetoprotein und 0.1 ml des 2. Antikörpers beinhaltete.

Das Immunpräzipitat trennten wir von der übrigen Lösung durch Zentrifugation bei 300 U/min über 30 Minuten. Der Überstand wurde abgekippt, die Ränder der Träger mit Filterpapier sorgfältig von den restlichen zurückbleibenden Tropfen gesäubert. Die Radioaktivität der so vorbereiteten Proben maßen wir in einem Gammazähler Wallac ⁺⁺ eine Minute lang. Die Gesamtaktivität lag dabei im Mittel

⁺⁺ Fa. LKB Bromma 1, Sweden

bei 17.000 counts, der Nullwert bei 12.500 counts. Für den N-Wert massen wir eine Aktivität von ca. 200 counts, der Leerwert betrug 10-20 counts.

2.3.4. Auswertung

2.3.4.1. Zeichnerische Auswertung

100% der Bindungsaktivität sind definiert als $\frac{\text{Aktiv. d. Totals-N-}}{\text{Aktiv. d. Nullw.-N-}}$

Die für die einzelnen Standards ermittelten Prozentwerte der Aktivität werden auf Lin-Log-Papier in ein Koordinatensystem mit linearer Ordinate (Prozentaktivität) gegen den Logarithmus der AFP-Konzentration (Abszisse im logarithmischen Maßstab) aufgetragen. Als angenäherte Bezugskurve erhält man eine typische S-förmig verlaufende Kurve. An ihr können dann die Konzentrationswerte für die Analysen abgelesen und nach Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor die endgültige Konzentration angegeben werden.

2.3.4.2. Rechnerische Auswertung

Nach Umwandlung der Prozentaktivität der Standardlösungen in Logits besteht eine lineare Beziehung zwischen diesen und den zugehörigen Logarithmen der AFP-Konzentration.

$$y = A + Bx \qquad \text{logit} = \ln \frac{p}{100-p}$$

y: logit der Prozentaktivität

p: % Aktivität

x: log der Konzentration

Für diese Beziehung errechneten wir die lineare Regressionsgerade nach dem Prinzip der kleinsten Abweichungsquadrate. Diese Auswertung führten wir mit eigenen Programmen auf dem Olivetti Tischrechner P 101 bzw. Burroughs C 7200 durch.

Das Programm ist in vier Teile gegliedert. Im ersten Teil werden die Zählraten der zweifach bestimmten Gesamtaktivität, des Nullwertes sowie des N-Wertes eingegeben, worauf die mittlere Zählrate des Nullwertes in Prozent der Gesamtaktivität ausgedruckt wird. In den von uns durchgeführten Tests der Fa. Dainabot lag dieser Wert zwischen 60 und 70 %. Die Aktivität des Nullwertes, die gewöhnlich 10-20 counts/min betrug, konnte bei unseren Berechnungen vernachlässigt werden.

Im Teil 2 des Programms werden zunächst die Doppelzählraten der Zweifachbestimmungen der Standards, dann die der Analysenlösungen in den Rechner getippt. Nach jeder Eingabe werden die mittlere Zählrate, die Umrechnung in Prozent des Nullwertes und der zugehörige

logit, sowie bei jeder Doppelbestimmung der Gesamtmittelwert der Zählrate, der % Aktivität und des logits ausgedruckt.

Die logits der Standardverdünnungen mit den entsprechenden Logarithmen der AFP-Konzentrationen, die vorher in logarithmischen Tafeln nachgeschlagen worden sind, werden in Teil 3 des Programmes zur Errechnung der linearen Regressionsgeraden in den Rechner gegeben. Im vierten Teil werden dann der Korrelationskoeffizient, die Kenngrößen A (Ordinatenschnittpunkt) und B (Steigung), sowie der Standardfehler der y-Schätzung ausgedruckt. Auf Abruf durch einen Zähler können nun bei Eingabe der logits der Analysen die zugehörigen Logarithmen der AFP-Konzentrationen errechnet werden, die dann automatisch entlogarith-

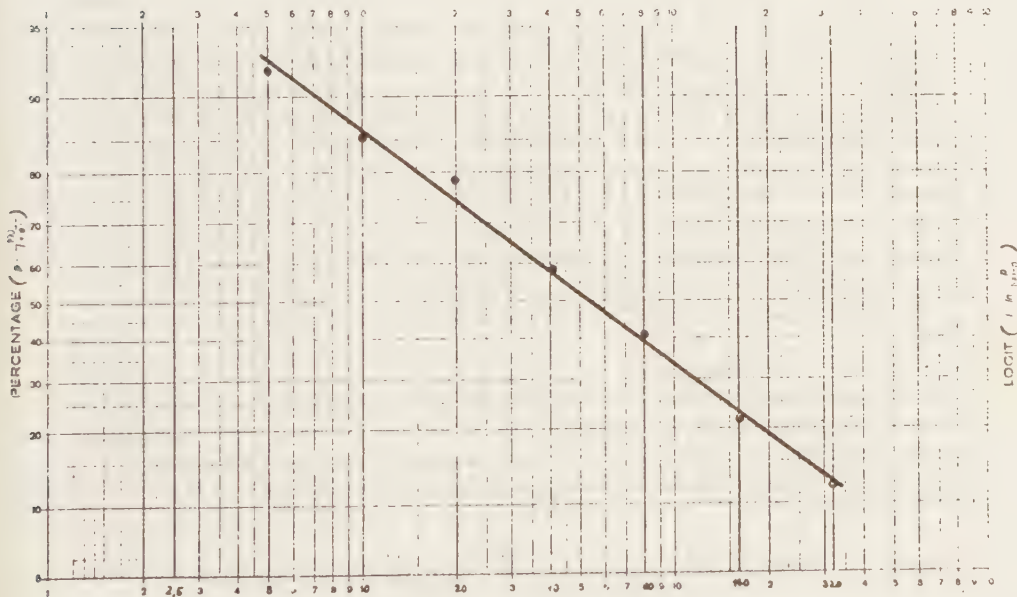


ABBILDUNG 3

Standard-Logit-log-Inhibitionsgerade eines kommerziellen (Fa. Abbott) AFP-Radioimmunoassays.

miert werden. Nach Eingabe des Verdünnungsfaktors wird die endgültige Konzentration ausgedruckt.

Bestimmungen die über dem oberen Grenzwert der Standardverdünnungsreihe zu liegen kommen, müssen in geeigneter Verdünnung wiederholt werden.

2.3.5. Präzision der radioimmunologischen Nachweismethode

2.3.5.1. Kenngrößen der bei der radioimmunologischen AFP-Bestimmungen verwendeten Regressionsgeraden

Die Verwendbarkeit der aus der Beziehung $\logit \% \text{Aktiv.} = A + B \lg \text{AFP-Konz.}$ errechneten Regressionsgeraden prüften wir anhand des Korrelationskoeffizienten r , sowie durch Vergleich der Standard-AFP-Konzentrationen mit den tatsächlichen AFP-Spiegeln der Standardverdünnungsreihe. Bei 23 von uns durchgeführten Tests der Fa. Dainabot erhielten wir einen mittleren Korrelationskoeffizienten r von 0.9949 (Variationskoeffizient VK 1.005). Die Streuung der y -Werte lag im Mittel bei 0.0962 (VK 31.185 %). Ein Vergleich unserer B -Werte, die einen Mittelwert von 2.255 (VK 9.151 %) besaßen, mit dem aus theoretischen Erwägungen von Rodbard et al. gefundenen Absolutwerten von 2.303, läßt auf eine nahezu identische Affinität des markierten und unmarkierten Alphafetoprotein zum Anti-AFP-Ig G schließen. Die Werte A (Ordinatenschnittpunkte) wiesen bei unterschiedlichen Chragen-Nummern der Tests bei einem Zentralwert von 3.915 einen Variationskoeffizienten von 13.5 % auf.

2.3.5.2. Fehlerbreite

In 15 Kits mit verschiedenen Chragen-Nummern bestimmten wir je einmal ein und dasselbe unverdünnte Patientenserum. Wir berechneten einen mittleren Wert von 138.83 ng/ml, bei einer Streuung $s = 12.5185$ und einem Variationskoeffizienten von 9.0169 %.

2.4. VERGLEICH DER VERWENDETEN METHODEN

2.4.1. Vergleich der einfachen radialen Immundiffusion mit der Elektroimmundiffusionsmethode nach Laurell

Wir verglichen Ergebnisse derselben Analysenproben, die wir einmal mit der Methode nach MANCINI und einmal mit der Gelelektrophorese nach LAURELL erhalten hatten. Die AFP-Konzentrationspiegel von 67 Nabelschnurseren wurden zu diesem Zweck doppelt bestimmt und die Ergebnisse als Wertpaare einander gegenüber gestellt. Die x_i -

Reihe enthielt die Werte der radialen Immundiffusion, die y_i -Reihe die Werte der Gelelektrophorese. Zur Prüfung der Gleichheit der beiden verbundenen Varianten wandten wir den Student-T-Test an.

t ergab einen Wert von 1.10889 bei einer mittleren Differenz $\bar{d}=0.4716$ und einen $s_{\bar{d}}$ von 0.4253.

Somit konnten wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den nach verschiedenen Methoden gewonnenen AFP-Konzentrationen im Nabelschnurserum feststellen. In Abb. 4 haben wir die Wertpaare in ein Diagramm eingetragen. Die nach LAURELL erhaltenen Meßgrößen sind dabei als Funktion der nach MANCINI gewonnenen Ergebnisse aufgetragen.

Bei einem mittleren Wert $\bar{x}$ von 9.3656 und einem gemittelten $\bar{y}$ von 8.894 errechneten wir einen Korrelationskoeffizienten von 0.812269. (Abb. 4)

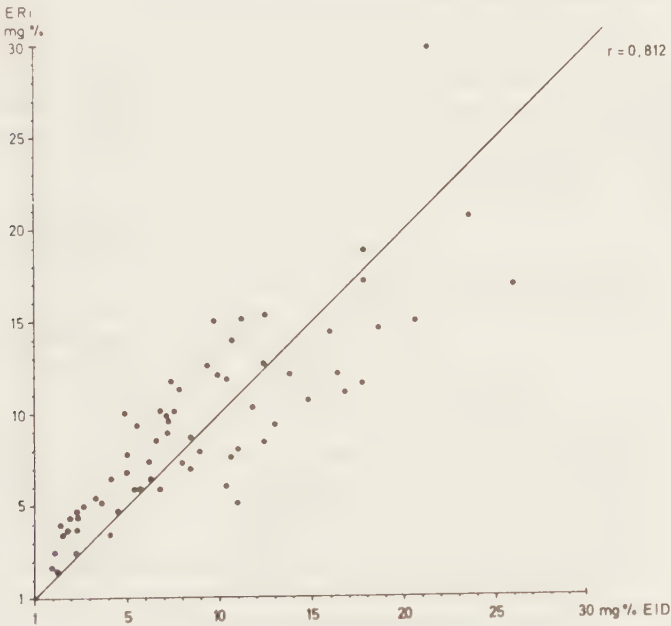


ABBILDUNG 4

Korrelation zwischen mittels einfacher radialer Immunodiffusion (ERI, Ordinate) und mittels Elektroimmunodiffuon (EID, Abszisse) bestimmten AFP-Konzentrationen gleicher Nabelschnurserum-Proben (eigene Platten).

2.4.2. Vergleich der radioimmunologisch bestimmten AFP-Konzentrationen mit Werten, die mittels einfacher radialer Immundiffusion ermittelt wurden

21 AFP-Konzentrationen, die wir auf M-Partigenplatten der Fa. Behringwerke ermittelt hatten, bestimmten wir ein zweites Mal in einer hierfür nötigen 1:1000 Verdünnung im radioimmunologischen Testverfahren. Mit unserem Korrelationsprogramm ermittelten wir einen Koeffizienten von 0,973971. Im Student-T-Test erhielten wir bei einer mittleren Differenz der beiden verbundenen Varianten von $\bar{d} = 0,2023$ einen Wert $t = 0,5339$. Signifikante Unterschiede zwischen den Wertpaaren konnten wir somit nicht feststellen.

2.5. BESTIMMUNG DER RELATIVEN CLEARANCE DER SERUMPROTEINE

2.5.1. Definition

Die relative Clearance eines Serumproteins $C_{\text{rel. Prot.}}$ ist die renale Clearance eines Serumproteins $C_{\text{Prot.}}$

bezogen auf ein Standardprotein -hier Albumin-, dessen Clearancegröße gleich 100 % gesetzt wird.

$$C_{\text{rel. Prot.}} = \frac{C_{\text{Prot.}}}{C_{\text{Alb.}}} \times 100$$

$$C_{\text{Prot.}} = \frac{U_{\text{Prot.}} \times V}{P_{\text{Prot.}}}$$

$$C_{\text{Alb.}} = \frac{U_{\text{Alb.}} \times V}{P_{\text{Alb.}}}$$

$C_{\text{Alb.}}$ = renale Albumin Clearance

$C_{\text{Prot.}}$ = renale Protein Clearance

$U_{\text{Alb.}}$ = Albuminkonzentration im Urin

$U_{\text{Prot.}}$ = Proteinkonzentration im Urin

$P_{\text{Alb.}}$ = Albuminkonzentration im Serum

$P_{\text{Prot.}}$ = Proteinkonzentration im Serum

V = 24-Stunden-Urinvolumen

$$C_{\text{rel. Prot.}} = \frac{U_{\text{Prot.}} \times P_{\text{Alb.}}}{U_{\text{Alb.}} \times P_{\text{Prot.}}} \times 100$$

2.5.2. Geräte

Um eine messbare AFP-Konzentration im Harn zu erreichen, mußten wir den 24 Stunden Urin hochgradig einengen. Wir verwendeten hierfür ein handelsübliches Ultrafiltrationsgerät⁺, sowie eine Vakuumdialysevorrichtung⁺⁺.

2.5.3. Konzentrierung

Nach dem exakten Messen des 24 h-Urinvolumens zentrifugierten wir dieses bei 3000 U/min ca. 20 Minuten lang. Der Überstand wurde abgegossen und das Einengungsvolumen bestimmt. Durch den Zusatz einer Spatelspitze Cialit^R verhinderten wir ein Überwuchern der bakteriellen Flora im Urin. Die Versuchsflüssigkeit füllten wir anschließend in einen Vorratsbehälter, an den eine Gasdruckquelle angeschlossen werden konnte, so daß der Urin während des Konzentrierungsvorganges kontinuierlich in die Ultrafiltrationszelle geleitet wurde. Diese ist mit einem Überdruckventil mit eingebautem Druckauslassventil und Einfüllstutzen versehen. Die Filtrationsmembran wird auf eine poröse Scheibe am Zellboden gelegt. Wir verwendeten Diaflo Membranen vom Typ UM 10, die unter einem Druck von ca. 4 kg/cm² eine über 95 %ige Trennfähigkeit für Molekulargewicht größer als 17.800 besitzen.

Um dem durch das Absetzen von Makromolekülen an der Membranoberfläche möglichen Effekt einer Sekundärmembran entgegenzuwirken, ist die Filtrationszelle mit einer magnetischen Rührvorrichtung versehen. Durch sehr langsames Rühren wird auch bei zunehmender Proteinkonzentration ein Schäumen der Flüssigkeit verhindert. Die aus dem Urin filtrierte wässrige Lösung leiteten wir über einen flexiblen Plastikslauch in ein Auffanggefäß. Mittels eines elektronisch gesteuerten Endpunktreglers wurde der Konzentrierungsvorgang beendet. Er besteht aus zwei Glaselektroden mit Platinspitzen. Bei steigendem Flüssigkeitsspiegel im Auffanggefäß entsteht elektrischer Kontakt zwischen den beiden Elektroden, der das System dann automatisch abschaltet: die magnetische Rührvorrichtung und die Gaszufuhr wird unterbrochen, der in der Zelle verbleibende Gasdruck entweicht langsam.

In der Ultrafiltrationszelle konzentrierten wir unsere Harnvolumina auf ca. 60 ml. Wir sammelten die eingeengte restliche Harnmenge, und spülten die Zelle mehrmals sorgfältig mit 0,9 %iger NaCl nach,

⁺ Fa. Amicon, Oosterhout, Holland

⁺⁺ Fa. Sartorius, Göttingen

um den Proteinverlust, der durch das Festhaften eines Flüssigkeitsfilmes an den Zellwänden entstehen könnte, möglichst gering zu halten. Dieses Konzentrat entsalzten wir durch 20 minütiges Zentrifugieren bei 10.000 - 12.000 U/min. Den Überstand von durchschnittlich 70 - 100 nl engten wir nochmals in einer Unterdruckkonzentrierungsvorrichtung in Kollodiumhülsen ⁺⁺ gegen aqua dest. ein. Auf diese Weise erzielten wir Endvolumina von 2-4 ml.

Die Konzentrationswerte für Albumin, Transferrin und Immunglobulin G im Serum und im Urinkonzentrat bestimmten wir mit der unter 2.1. beschriebenen radialen Immundiffusion nach Mancini. Die Alphafetospiegel im Serum wie im eingeeengten Harn ermittelten wir radioimmunologisch. Die Gesamteiweißbestimmung erfolgte photometrisch.

2.5.4. Protein- und Gesamteiweißbestimmung im Serum und Urin Die Konzentrationswerte für Albumin, Transferrin und Ig G in Serum und Urinkonzentrat bestimmten wir mit der unter 2.1. beschriebenen Immundiffusion nach MANCINI. Die AFP-Spiegel im Serum und Urinkonzentrat ermittelten wir radioimmunologisch.

Der Gesamteiweißgehalt des Serum wurde nach der Biuretmethode nach WEICHSELBAUM (210a) bestimmt. Als Kontrollserum fand Monitrol II ⁺ Verwendung. Mittels eines Computerprogramms, das für dieses Verfahren ausgearbeitet wurde, konnte man aus den Extinktionskoeffizienten unter Bezugnahme auf die Monitrol II-Werte die Gesamteiweißkonzentration bestimmen. Da der Urin stark eingeeengt war, konnten wir für die Gesamteiweißbestimmung ebenfalls die Biuretmethode nach WEICHSELBAUM verwenden. Die Gesamteiweißausscheidung in 24 Stunden wurde dann mittels Gesamteiweiß, Einengungsfaktor und Urinvolumen / 24 h berechnet.

2.5.5. Berechnung der Protein clearance

Für die Berechnung der relativen Clearance wurde ein Rechenprogramm für den Tisch-Computer Olivetti P 101 verwendet:

Nach Eingabe des in 24 h produzierten Urinvolumens, des Einengungsvolumens, sowie der Menge des konzentrierten Harns, wird der Albuminspiegel im Serum des Patienten und die Albuminkonzentration im eingeeengten Urin eingetippt. Die absolute Albumin clearance wird ausgedruckt, wobei der Einengungsgrad automatisch mit in die Berechnung einbezogen wird. Gibt man nun die Konzentrationswerte im Serum sowie im Harnkonzentrat der übrigen bestimmten Proteine in den Rechner, berechnet dieser den absoluten Clearancewert; gleichzeitig er-

⁺⁺ Fa. Sartorius, Göttingen

+ Merz + Dade GmbH, München

folgt eine Transformation in Relativ% zur Albuminclearance. Dieser Wert wird logarithmiert und ebenfalls automatisch ausgedruckt. Versucht man nun eine lineare Korrelation zwischen dem Logarithmus des Molekulargewichts der einzelnen Serumproteine und dem Logarithmus der relativen Clearance zu finden, so können wir in einem weiteren einfachen Korrelationsprogramm die zugehörige Regressionsgerade berechnen. Dabei werden die Logarithmen der relativen Clearance als Funktion der Logarithmen der Molekulargewicht, die als konstante Werte einmalig bestimmt werden, aufgefaßt. Die zusammengehörigen Wertpaare werden in den Rechner getippt, worauf dieser den Korrelationskoeffizienten, den Standardfehler der y-Schätzung und nach einlegen einer neuen Programmseite die Anzahl der zur Errechnung der Geraden verwendeten Punkte sowie die Werte A und B (Steigung) wiedergibt.

2.6. STATISTISCHE METHODEN

Folgende statistische Berechnungen wurden nach eigenen Programmen auf elektronischen Rechnern ⁺ ausgeführt:

Für die Messwerte der verschiedenen Kollektive arithmetisches Mittel ($\bar{x}$), Standardabweichung (s), Variationskoeffizient (VK), Anzahl (N), Spannweite (R), Varianz (s^2).

Die entsprechenden Kennwerte für die Wurzel-, Kehrwert- und Logarithmische Transformation.

Bei größeren Kollektiven wurden zusätzlich Häufigkeitsverteilungen über zu Klassen zusammengefaßte ansteigende Konzentrationsbereiche bestimmt. Für diese Verteilungen wurden zugehörige Parameter wie Mittelwert ($\bar{x}$), Median (x) und Dichtemittel (D) berechnet.

Für die Korrelation wurde bei annähernder Normalverteilung der lineare Korrelationskoeffizient r bzw. bei zu großer Abweichung der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient r_s ermittelt und anhand von Tabellen auf Signifikanz gegen Null geprüft.

Bei normal verteilten Kollektiven erfolgten Mittelwertvergleiche nach dem t-Test, bei Abweichungen nach dem U-Test bzw. nach Häufigkeitsverteilung nach dem parameterfreien Kolmogoroff-Smirnoff-Test.

Bei Paarvergleich abhängige Beobachtungen erfolgte bei annähernder Normalverteilung der Differenzen Prüfung durch den t-Test für Paardifferenzen, sonst durch den Wilcoxon-Test für Paardifferenzen.

Häufigkeitsdaten wurden im Vierfelder-Chi-Quadrat-Test bzw. durch den exakten Test von Fisher, im $k \times 2$ Felder- oder $r \times c$ - Tafel-Chi-Quadrat-Test bei Normalverteilung, sonst nach dem Kolmogoroff-Smirnoff-Test oder nach der Informationsstatistik von Kullback geprüft.

Bei Häufigkeitsverteilungen erfolgte Prüfung auf Normalverteilung durch den Chi-Quadrat- bzw. Kolmogoroff-Smirnoff-Anpassungstest.

K A P I T E L 3

UNTERSUCHTES MATERIAL

3.1. AFP-BESTIMMUNGEN IM SERUM EINES
NORMALKOLLEKTIVS

Bei 140 Kontrollpersonen bestimmten wir radioimmunologisch den AFP-Gehalt im Serum. 100 Proben stammten von jungen Männern kaukasischer Rassenzugehörigkeit im Alter zwischen 18 und 24 Jahren. Diese Analysen wurden uns von der Bundeswehr zur Verfügung gestellt; die Probanden waren Rekruten, die keinerlei klinische Auffälligkeiten zeigten. Die restlichen 40 AFP-Bestimmungen wurden bei gesunden Personen beiderlei Geschlechts (20/20) im Alter zwischen 20 und 30 Jahren durchgeführt, bei denen auch aufgrund anderer Serumuntersuchungen (BKS, Elektrophorese, Transaminasen) keine Abnormalitäten auffielen.

3.2. NABELSCHNURSERUM

Wir untersuchten das Nabelschnurvenenblut von 216 Neugeborenen⁺.

3.2.1. Reife Neugeborene

134 dieser Kinder, die zwischen der 36 und 42. Schwangerschaftswoche (SSW) geboren wurden, hatten eine Minute nach ihrer Geburt einen Apgarindex von mindestens 8, zeigten keinerlei Mißbildungen oder Verletzungen und wurden als reif befunden.

3.2.2. Unreife Neugeborene

25 Neugeborene zeigten Zeichen der Unreife. Sie kamen zwischen der 27. und 40. SSW zur Welt. Eines dieser Kinder war in der 35. Gestationswoche in utero gestorben.

3.2.3. Neugeborene mit erhöhtem Risiko

46 Kinder waren Risikoneugeborene: bei 9 von ihnen lag eine Rhesusinkompatibilität vor, 6 Neugeborene waren deutlich asphyktisch, bei 4 Säuglingen persistierte die Zyanose über die Norm, bei 7 Kindern war das Fruchtwasser als Hinweis auf eine vorangegangene Streßsituation mit Mekonium tingiert. Bei 20 Kindern lag eine Risikogeburt infolge einer gestörten Gravidität (14 EPH-Gestosen, 3 Blutungen in der Schwangerschaft, drei Graviditäten bei Diabetes mellitus der Mutter vor.

+ I. und II. Universitätsfrauenklinik, München

3.2.4. Überreife Neugeborene

Wir bestimmten die AFP-Spiegel im Neugeborenenserum von 11 Kindern, die zwischen der 39. und 43. Schwangerschaftswoche geboren wurden und deutliche Zeichen der Überreife aufwiesen.

3.3. AFP IM SERUM NORMALER UND PATHOLOGISCH VERLAUFENDER GRAVIDITÄTEN

Wir bestimmten den AFP-Gehalt im Serum eines Kollektivs von 116 schwangeren Frauen⁺ in verschiedenen Gestationsstadien. Bei 23 dieser Patientinnen lag ein erhöhtes Risiko vor: 6 waren Diabetikerinnen, 6 entwickelten eine EPH-Gestose, bei 4 Graviden lag ein Abortus imminens vor, 2 Cervixinsuffizienzen und 2 uteri myomatosi wurden diagnostiziert, eine Schwangere erkrankte an Masern, eine weitere Patientin hatte intrauterine Blutungen, eine Patientin zeigte eine massive Schwangerschaftsanämie. Zwei Schwangerschaften endeten in der 21. bzw. 40. SSW mit intrauterinem Fruchttod.

3.4. BESTIMMUNG DES AFP-GEHALTS IM SERUM VON FRAUEN POST PARTUM

Wir entnahmen bei 10 Patientinnen laufend Serumproben bis zum 5. Tag nach dem Partus und bestimmten deren AFP-Gehalt. Anhand der AFP-Abfallrate errechneten wir die biologische Halbwertszeit des Alphafetoproteins.

3.5. BESTIMMUNG VON AFP, ALBUMIN, TRANSFERIN, Ig G UND G IM SERUM UND IM URINKONZENTRAT SCHWANGERER FRAUEN

Bei 10 graviden Frauen sammelten wir zusätzlich des 24 h- Urin zur Berechnung der Clearance-Werte einiger Serumproteine. Drei Patientinnen waren klinisch gesund, die restlichen sieben waren Schwangere mit erhöhtem Risiko.

3.6. BESTIMMUNG DES ALPHAFETOPROTEINS IM FRUCHTWASSER

Fruchtwasser-AFP-Bestimmungen wurden in Proben von 52 Frauen⁺ zwischen der 15. und 26. Schwangerschaftswoche vorgenommen, bei

⁺ IL UFK, München

denen hauptsächlich wegen einer Altersindikation eine zytogenetische Untersuchung indiziert war. In einigen Fällen bestand u. a. aufgrund der Vorgeschichte Verdacht auf einen Neuralrohrdefekt des Feten. Zusätzlich wurden 61 Proben⁺ untersucht, bei denen in 60 Fällen eine unkomplizierte und in einem Fall eine komplizierte (intrauteriner Fruchttod) Rh-Inkompatibilität bestand (25.-38. SSW).

3.7. HODENTUMOREN

Zur Untersuchung gelangten Serumproben von 38 Patienten mit histologisch gesicherten teratoiden Hodentumoren einschließlich von Seminomen mit Beimengungen teratoiden Gewebes. Die Altersverteilung wies bei einem Bereich von 19 bis 42 Jahren ein Überwiegen jüngerer Patienten auf (22 / 38 = 58 % unter 30 Jahren).

53 Patienten mit reinen Seminomen waren zwischen 18 und 61 Jahren alt mit einem deutlichen Überwiegen älterer Kranker (79 % über 30 Jahre alt).

Die Patienten-Serumproben stammten überwiegend aus der Urologischen Klinik der Universität München, bzw. bei Spätkontrollen aus der Ambulanz der Klinik und Poliklinik für Radiologie der Universität München.

Sechs Kranke mit Verdacht auf Hodentumor stellten sich intraoperativ als Epididymitiden dar.

Bei einem Patienten wurde die histologische Diagnose eines Spindelzellsarkoms gestellt.

Außerdem untersuchten wir Serumproben eines Patienten mit HCG bildendem Chorionepitheliom.

3.8. GYNÄKOLOGISCHE TUMOREN

Wir untersuchten 16 Patientinnen mit Ovarialtumoren im Alter zwischen 18 und 77 Jahren (11 über 50 Jahre); 14 dieser Frauen⁺⁺ hatten ein histologisch gesichertes seröses Cystadeno-Karzinom; bei einer Patientin⁺⁺⁺ bestand ein malignes Teratom des Ovars, bei einer weiteren⁺⁺⁺ eine Dermoidzyste.

Zusätzlich wurden bei einer Patientin⁺ histologisch gesichertem Chorionepitheliom des Uterus prä- und postoperative AFP-Spiegel gemessen.

+ II. UFK, München

++ I. UFK, München

+++ Gynäkologische Abteilung des städt. Krh. Neuperlach

K A P I T E L 4

ERGEBNISSE ZUM KLINISCHEN TEIL

4.1. AFP bei gesunden Vergleichspersonen

Die Alphafetoproteinkonzentration im Serum von 140 gesunden Vergleichspersonen lag bei 121 Probanden (86,4 %) unter 5 ng/ml, bei den restlichen 19 wurden Werte zwischen 5 und 14 ng/ml gemessen. Wegen der Lage des überwiegenden Teils der Werte unterhalb der Empfindlichkeitsgrenze unseres Assays war eine Untersuchung der Häufigkeitsverteilung und Beurteilung der Verteilungsform nicht möglich.

4.2. AFP IM NABELSCHNURSERUM

4.2.1. AFP im Nabelschnurserum reifer Neugeborener

Der mittlere AFP-Gehalt in 134 Nabelschnurseren reifer gesunder Neugeborener betrug 7.2 ± 3.6 mg% (VK 50,8 %) mit einem Konzentrationsbereich zwischen 1 und 20 mg%. Das Gesamtkollektiv wurde nach Gestationswochen in fünf Gruppen unterteilt und für jede dieser Gruppen der Mittelwert, die einfache Streuung, der Konzentrationsbereich, sowie der Variationskoeffizient berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

TABELLE 2

Koll Nr.	Gestat. dauer Wochen	N	$\bar{x}$ AFP mg%	Bereich	Streuung s	Var. koeff. %
1	36-38	13	9.7	4.8 - 16.9	3.3	33.8
2	39	15	9.1	5.5 - 15.5	2.6	29.1
3	40	55	6.1	1.0 - 20.0	3.3	53.9
4	41	27	8.0	2.5 - 16.0	4.0	49.7
5	42	24	6.1	1.0 - 13.7	3.6	58.6
	36-42	134	7.2	1.0 - 20.0	3.6	50.8

Im Kolmogoroff-Smirnoff-Test zur Prüfung zweier nicht verbundener Stichproben testeten wir die AFP-Konzentrationen der einzelnen Gruppen gegeneinander. Wegen der geringen n-Zahl faßten wir die beiden ersten Kollektive zusammen und prüften diese gegen die in der 40. SSW geborenen reifen Kinder, wie wir auch die restlichen Gruppen gegeneinander testeten. Ein statistisch gesicherter Unterschied bestand zwischen

Gruppe Nr. 1+2 gegen Gruppe Nr. 3 ($p < 0.01$)

Gruppe Nr. 1+2 gegen Gruppe Nr. 5 ($p < 0.05$)

Nicht statistisch erfaßbar war eine Verschiedenheit der AFP-Spiegel der ersten beiden Gruppen und des Kollektivs Nr. 4. Auch bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den AFP-Konzentrationen der in Gruppe 3 und 4 zusammengefaßten reifen Neugeborenen. Eine Häufigkeitsverteilung der AFP-Spiegel der einzelnen Kollektive sind in Abb. 6 wiedergegeben.

4.2.2. AFP im Nabelschnurserum unreifer Neugeborener

23 zwischen der 32. und 40. Schwangerschaftswoche geborenen unreifen Säuglinge zeigten einen mittleren AFP-Gehalt im Nabelschnurvenenblut von $18.4 \pm 2.68 \text{ mg\%}$ (VK 69.8 %). Die geringste Konzentration von $4.9 \text{ mg\%}$ wurde bei zwei in der 38. und 40. Gestationswoche geborenen Säuglingen festgestellt, die höchste Konzentration von $49.5 \text{ mg\%}$ AFP bei einem in der 32. SSW geborenen Säugling gemessen. Bei zwei in der 27. Gestationswoche geborenen unreifen Kindern wurden der AFP-Spiegel von $1 \text{ mg\%}$ ermittelt. Beide Fälle wurden bei der statistischen Auswertung nicht mitberücksichtigt.

4.2.3. AFP im Nabelschnurserum von Risikoneugeborenen

Die Gruppe der Risikoneugeborenen umfaßte 46 Kinder, die sämtlich termingerecht zwischen der 38. und 42. SSW zur Welt kamen. Hier lag der mittlere AFP-Spiegel bei $14 \text{ mg\%} \pm 9.95$ (VK 71.1 %). Niedrigste und höchste Konzentrationen waren 1.0 bzw. $45.6 \text{ mg\%}$.

4.2.4. AFP im Nabelschnurserum überreifer Neugeborener

11 zwischen der 39. und 43. Gestationswoche geborener überreifer Säuglinge hatten AFP-Konzentrationen im Nabelschnurblut zwischen 1 und $8.8 \text{ mg\%}$, mit einem Mittelwert von $\bar{x} = 4.5 \text{ mg\%} \pm 2.9$ (VK 64.5 %). (Abb. 7).

4.2.5. Vergleich der AFP-Konzentrationen der reifen, unreifen, Risiko- und überreifen Neugeborenen

Die AFP-Spiegel im Nabelschnurserum reifer, unreifer und Risiko-

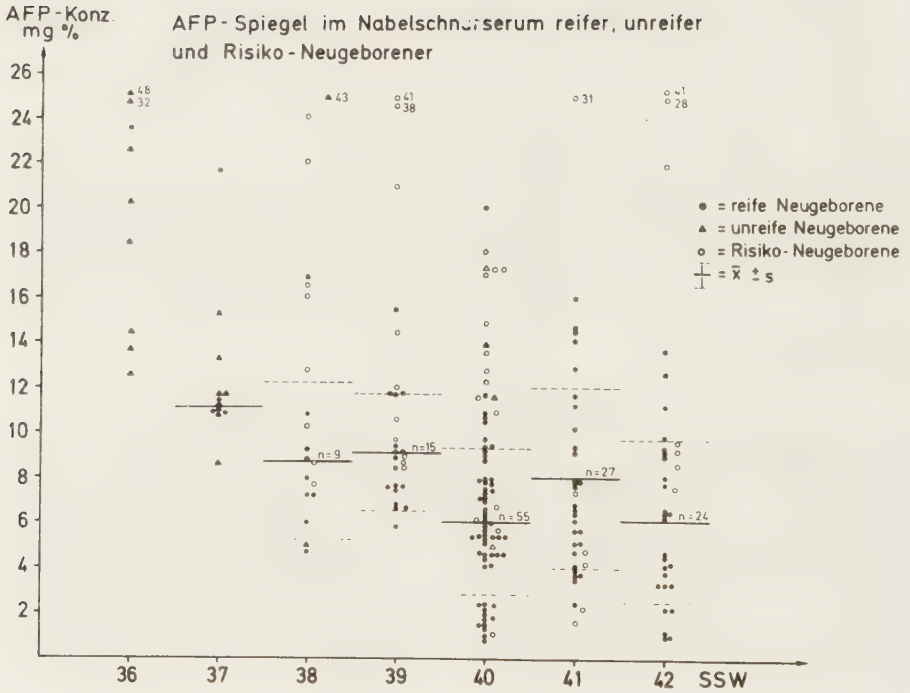


ABBILDUNG 5

AFP Konzentrationsverteilung bei reifen Neugeborenen in verschiedenen SSW

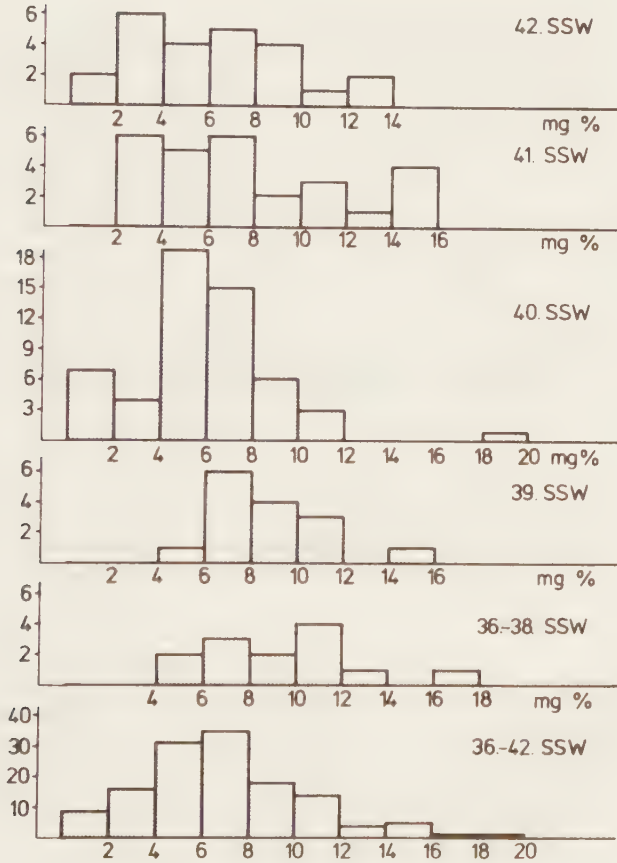


ABBILDUNG 6

AFP Konzentrationsverteilung bei Neugeborenen

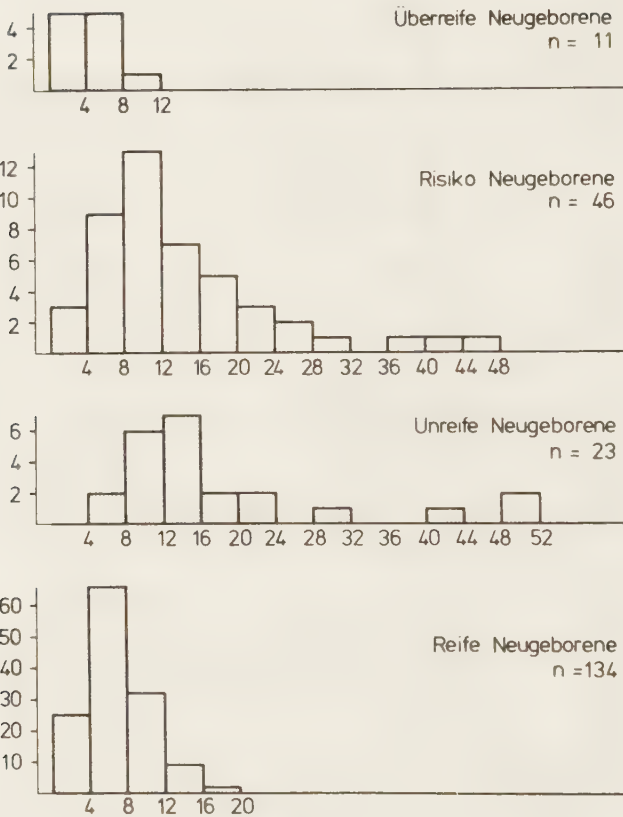


ABBILDUNG 7

Neugeborener sind in Abb. 5 zusammenfassend dargestellt. Die Konzentrationsangaben der unterschiedlichen Kollektive sind mit gesonderten Symbolen gekennzeichnet.

Die Gegenüberstellung der AFP-Spiegel der verschiedenen Gruppen im Kolmogoroff-Smirnoff-Test erbrachte folgende rechnerischen Ergebnisse:

Die AFP-Konzentration der Gruppe der unreifen und der Risiko-Kinder zeigten keine signifikante Unterschiedlichkeit (K. S. 0.1956). Sehr deutlich sind die AFP-Spiegel der unreifen Säuglinge und der Kinder mit erhöhtem Risiko von denen der Gruppe der reifen Neugeborenen verschieden ($p < 0.001$ K. S. 0.5921; $p < 0.001$ K. S. 0.4182).

Ebenso unterscheiden sich die Gesamtheit der unreifen und der Risiko-Neugeborenen signifikant in ihrem AFP-Gehalt ($p < 0.001$ K. S. 0.4762) von dem reifer gesunder Neugeborener.

Mit einem $p < 0.001$ (K. S. 0.822) wird auch die Differenz der AFP-Konzentrationen im Neugeborenenblut unreifer und überreifer Kinder deutlich, ebenso wie sich die Gruppe der Risikoneugeborenen von den überreifen Säuglingen bezüglich ihres AFP-Gehalts signifikant unterscheidet ($p < 0.01$ K. S. 0.6482).

Die Verteilung der AFP-Konzentrationen im Neugeborenenblut reifer, unreifer, überreifer und Risiko-Neugeborener sind in der Abb. 6 und 7 wiedergegeben.

4.2.6. Beziehung zwischen AFP-Konzentration und Gestationsalter

Die Abhängigkeitsprüfung der Höhe des AFP-Spiegels von der Gestationsdauer erbrachte eine enge umgekehrt proportionale Verknüpfung beider Größen. ($r = -0.59$). Zur Prüfung der letztgenannten Beziehung hatten wir alle Säuglinge mit Ausnahme der Risikoneugeborenen mitberücksichtigt ($n = 168$).

4.2.7. Beziehung zwischen AFP-Konzentration und Geburtsgewicht

Keine Korrelation bestand unserer Erfahrung nach zwischen dem Geburtsgewicht und der AFP-Konzentration. Wir prüften diese Abhängigkeit bei 158 Neugeborenen und errechneten einen Korrelationskoeffizienten $r = 0.01$.

4.3. QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON ALBUMIN, COERULOPLASMIN, α_2 -MAKROGLOBULIN, TRANSFERRIN, Ig G UND GESAMTEIWEISS IM NABELSCHNURBLUT.

Wir bestimmten bei 69 Neugeborenen zusätzlich zum AFP-Gehalt die Albumin, Coeruloplasmin, α_2 -Makroglobulin, Transferrin-, Ig G- und Gesamteiweißkonzentration im Nabelschnurvenenblut. Das untersuchte Material stammte von 48 zwischen der 37. und 42. Gestationswoche geborenen gesunden reifen Neugeborenen und von 21 Risikoneugeborenen. In Tabelle 3 sind die Mittelwerte, die Streuungen, die Variationskoeffizienten, sowie die Variationsbereiche der einzelnen Serumproteine beider Kollektive zusammengefaßt.

Ein statistisch erfaßbarer Unterschied hinsichtlich der Albumin-, Coeruloplasmin, α_2 -Makroglobulin-, Transferrin-, Ig G-, und Gesamteiweißkonzentrationen beider Gruppen konnte nicht festgestellt werden.

4.3.1. Beziehung zwischen AFP-Konzentration und den übrigen bestimmten Serumproteinen

Wir testeten mit den nicht transformierten Konzentrationsangaben die Korrelation zwischen den AFP-Serumwerten und den entsprechenden Albumin-, Coeruloplasmin-, α_2 -Makroglobulin-, Transferrin- und Ig G- Konzentrationen. Bei dieser Prüfung betrugen die Korrelationskoeffizienten 0.08, -0.28, -0.18, -0.26 und -0.1. Soweit bestand nach unseren Erfahrungen keine lineare Abhängigkeit zwischen AFP und den übrigen bestimmten Serumproteinen, wie auch zwischen diesen und dem Gestationsalter keine statistisch gesicherte Beziehung bestand.

4.4. AFP in der SCHWANGERSCHAFT

4.4.1. Radioimmunologische Bestimmung des AFP-Spiegels bei normal verlaufenden Schwangerschaften

Das Gesamtkollektiv von 91 schwangeren Frauen wurde nach der Dauer der Gestation in 15 Gruppen aufgeteilt. Die Mittelwerte, Streuungen und Variationsbereiche sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Eine Unterscheidung vom Serumspiegel gesunder Nichtschwangerer ist in der 7. Woche der Gravidität noch nicht möglich. Bereits in der 11. SSW zeigen 2 von 5 unauffällig verlaufenden Graviditäten mit 29 bzw. 33 ng/ml deutlich über die Norm erhöhte AFP-Titer. In der 13./14. SSW liegen die Hälfte der bestimmten AFP-Konzentrationen über 15 ng/ml.

TABELLE 3

Protein		$\bar{x}$ mg%	Streuung s	Variat. koeff. %	Bereich
Albumin	reife N. n = 48	3774	748	20	2062-5243
	Risikon. n = 21	3615	775	21	2125-4990
Coerulo- plasmin	reife N. n = 48	14.8	6.3	43	6.0-38.0
	Risikon. n = 21	12.6	5.1	40	4.7-23.9
α_2 -Makro- globulin	reife N. n = 48	401	104	26	213-680
	Risikon. n = 21	364	79	22	253-507
Trans- ferrin	reife N. n = 48	242	86	36	148-620
	Risikon. n = 21	234	87	37	89-475
Ig G	reife N. n = 48	1482	353	24	924-2478
	Risikon. n = 21	1457	460	32	814-2785
Gesamt- eiweiß	reife N. n = 48	6.3	1.24	20	1.9-9.7
	Risikon. n = 21	6.2	0.74	12	4.4-7.4

Im zweiten Trimenon der Schwangerschaft beobachtet man einen deutlichen Anstieg der AFP-Konzentration. Zu diesem Zeitpunkt der Gravidität lagen alle AFP-Werte über dem AFP-Spiegel gesunder Normalpersonen.

Aus dem in Abb. 9 gezeigten Verteilungsschema der AFP-Konzentrationen in den verschiedenen Stadien der Gravidität geht ein deutlich signifikanter Unterschied der im ersten und zweiten Trimenon gemessenen AFP-Spiegel hervor. Der Gesamtmittelwert betrug im zweiten Drittel der Schwangerschaft $121.8 \text{ ng/ml} \pm 78.8$ (VK 65%).

Die AFP-Konzentration im Serum gravider Frauen erreicht ihr Maximum in der 33.-38. SSW. Wir konnten bei klinisch unauffälligen Schwangeren Serumwerte bis 406 ng/ml messen. In der 39./40. und 41./42. Woche wird dieser AFP-Konzentrationsgipfel von einem deutlichen Titerabfall gefolgt. Der aus 50 im dritten Trimenon bestimmten Analysen berechnete Mittelwert betrug $162.2 \text{ ng/ml} \pm 88.3$ (VK 54.4%). Die Häufigkeitsverteilung der Einzelwerte sind in Abb. 9 graphisch dargestellt. Die Homogenitätsprüfung der im II. und III. Trimenon gemessenen AFP-Titer im Kolmogoroff-Smirnoff-Test erbrachte keinen signifikant erfaßbaren Unterschied beider Stichproben. Jedoch konnten wir eine signifikante Differenz der AFP-Konzentrationen bis zum maximalen Anstieg in der 38. SSW gegenüber den AFP-Spiegeln des II. Trimenons errechnen ($p < 0.01$). Der Gesamtmittelwert der zwischen der 29. und 38. Gestationswoche bestimmten AFP-Werte betrug $198.4 \text{ ng/ml} \pm 88.7$ (VK 44.7 %).

4.4.2. AFP im Serum pathologisch verlaufender Schwangerschaften

Die AFP-Serumwerte, die wir bei pathologisch verlaufenden Schwangerschaften ($n = 23$) bestimmten, lagen ausnahmslos in dem für den jeweiligen Gestationsabschnitt berechneten Normbereich. Deutlich erhöht waren zwei Fälle von intrauterinem Fruchttod in der 21. bzw. 40. SSW; im ersten Fall maßen wir einen AFP-Gehalt von 447 ng/ml im mütterlichen Serum; unser Vergleichsmittelwert für die 21. Gestationswoche beträgt $101.5 \pm 52.9 \text{ ng/ml}$. Bei der zweiten Patientin bestimmten wir in der 40. SSW einen AFP-Titer von 273 ng/ml . Unser Mittelwert für die 39./40. SSW beträgt $119.8 \pm 66.1 \text{ ng/ml}$. Eine Übersicht über die AFP-Spiegel im Serum gesunder und klinisch auffälliger Schwangerer zeigt Abb. 8.

TABELLE 4

AFP-SPIEGEL IM SERUM GESUNDER SCHWANGERER

S S W	N	AFP-Konzentr. in ng/ml	Bereich
7	1	2	- - -
11/12	5	14.3 $\pm$ 13.2	(2.0- 33.0)
13/14	8	17.0 $\pm$ 16.1	(2.0- 44.0)
15-18	4	50.0 $\pm$ 18.9	(23.0- 67.0)
19/20	5	129.4 $\pm$ 101.3	(52.0-292.0)
21/22	4	101.5 $\pm$ 52.9	(47.0-147.0)
23-25	8	107.5 $\pm$ 66.2	(36.0-244.0)
27/28	6	195.8 $\pm$ 68.4	(112.0-278.0)
29/30	6	171.2 $\pm$ 65.2	(95.0-270.0)
31/32	5	176.2 $\pm$ 32.5	(124.0-205.0)
33/34	2	230	(225; 235;)
35/36	5	210.8 $\pm$ 117.7	(98.0-405.0)
37/38	10	213.3 $\pm$ 115.3	(91.0-406.0)
39/40	20	119.8 $\pm$ 66.1	(40.0-244.0)
41/42	2	80.8	(76.5; 94.0)

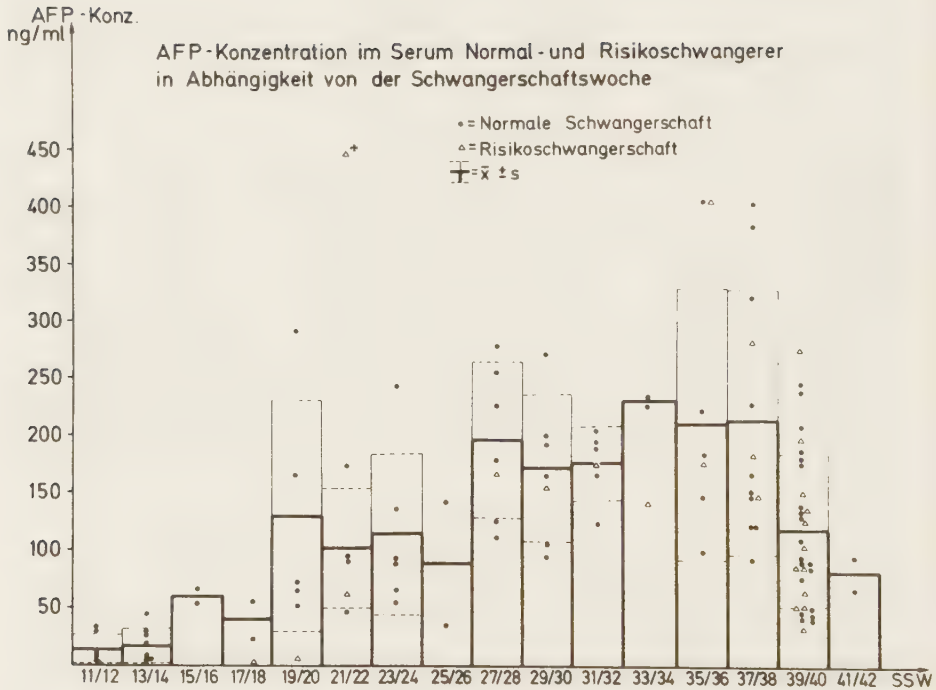


ABBILDUNG 8

AFP Konzentrationsverteilung in der Schwangerschaft

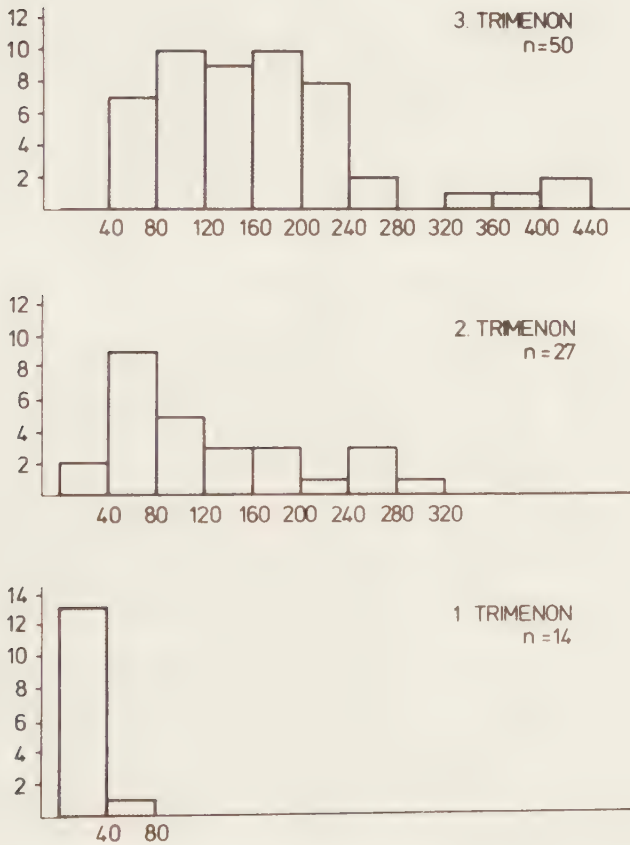


ABBILDUNG 9

4.5. BERECHNUNG DER HALBWERTSZEIT DES AFP

Aus dem Konzentrationsabfall des AFP innerhalb 5 Tagen post partum bei 10 Frauen konnte die biologische Halbwertszeit des Alphafetoproteins errechnet werden (Abb.10). Die logarithmisch transformierten Serumwerte standen in guter Korrelation zu dem entsprechenden Tag nach der Geburt. Der zum Zeitpunkt der Geburt gemessene AFP-Spiegel war eine Funktion von $x = 0$. Unsere Korrelationskoeffizienten betrugen im Mittel 0.9877 (VK 1.4 %). Die Steigungen der errechneten Geraden waren durchschnittlich 0.989 (Tab.5). In der geringen Streuung von 0.01 und dem Variationskoeffizienten von 14.3 % kommt die nahezu identische Steilheit der Geraden zum Ausdruck. Wir errechneten übereinstimmende Halbwertszeiten zwischen 2.52 und 3.59 Tagen, im Mittel 2.988 ± 0.4 . Der Variationskoeffizient betrug 12.5 %. (Abb.10, Tab.5).

4.6. CLEARANCEBESTIMMUNGEN

Bei 10 schwangeren Frauen wurde die absolute und die auf Albumin bezogene relative Clearance von Albumin, AFP, Transferrin und Ig G bestimmt. Im einzelnen handelte es sich um drei klinisch gesunde Frauen, drei Diabetikerinnen, drei Patienten mit Gestose und eine Patientin mit einer Schwangerschaftsanämie.

Bei allen Patientinnen, die keine bzw. eine nur sehr geringe Proteinurie hatten, konnte keine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus des Molekulargewichtes der Proteine und der relativen Clearance festgestellt werden (Tabelle 6), hingegen ermittelten wir Korrelationskoeffizienten von -0.805, -0.8335 und -0.8587 bei allen drei Patientinnen mit deutlicher Proteinurie (Tab.6).

Die Größenordnung der Albumin-, Transferrin- und IgG- Ausscheidung der sieben Frauen ohne Eiweißausscheidung im Urin ist in allen diesen Fällen untereinander vergleichbar (Tab.6). Die absolute Albuminclearance beträgt im Mittel $0.1122 \gamma / \text{min}$ ($s = 0.06$, VK 54 %), die Transferrin-Ausscheidung zeigt einen mittleren Wert von $0.076 \gamma / \text{min}$ ($s = 0.06$, VK 80 %), die Ig G - Clearance liegt im Mittel bei $0.138 \gamma / \text{min}$ ($s = 0.08$, VK 57 %).

Auffällig ist bei allen Fällen eine hohe Ig G Ausscheidungsrate, die der des Albumin gleicht oder sie übersteigt. Auch AFP wird trotz des dem Albumin ähnlichen Molekulargewicht in weitaus größeren Mengen als dieses durch die Niere eliminiert; nur bei einer Patientin lag die AFP-Clearance unter der des Albumin. (Tab.6, Pat.Nr.7). Hinsichtlich der

HALBWERTZEITEN DER AFP-SERUMSPIEGEL
BEI 10 FRAUEN POST PARTUM

Pat.Nr.	AFP-Konz. ng/ml	Korr.-Koeff. r^I	Steigung B^I	H W Z
1	40,0	- 0,99	- 0,11	2,52
2	132,0	- 0,99	- 0,10	2,91
3	175,0	- 0,99	- 0,10	2,99
4	81,0	- 0,99	- 0,10	3,06
5	123,0	- 0,97	- 0,08	3,25
6	219,0	- 0,96	- 0,11	2,52
7	77,0	- 0,99	- 0,11	2,68
8	59,0	- 0,99	- 0,08	3,59
9	83,0	- 0,98	- 0,09	2,83
10	76,0	- 0,99	- 0,08	3,48
$\bar{x}$	106,5		- 0,10	2,98
s	55,7		0,01	0,37
V.K.	52,3 %		13,2 %	12,5 %

I: Korrelations-Koeffizient r und Steigung B der Regressionsgleichung
 y (Log. d. AFP-Konz.) = $A + B \cdot x$ (Tage post partum)

TABELLE 5

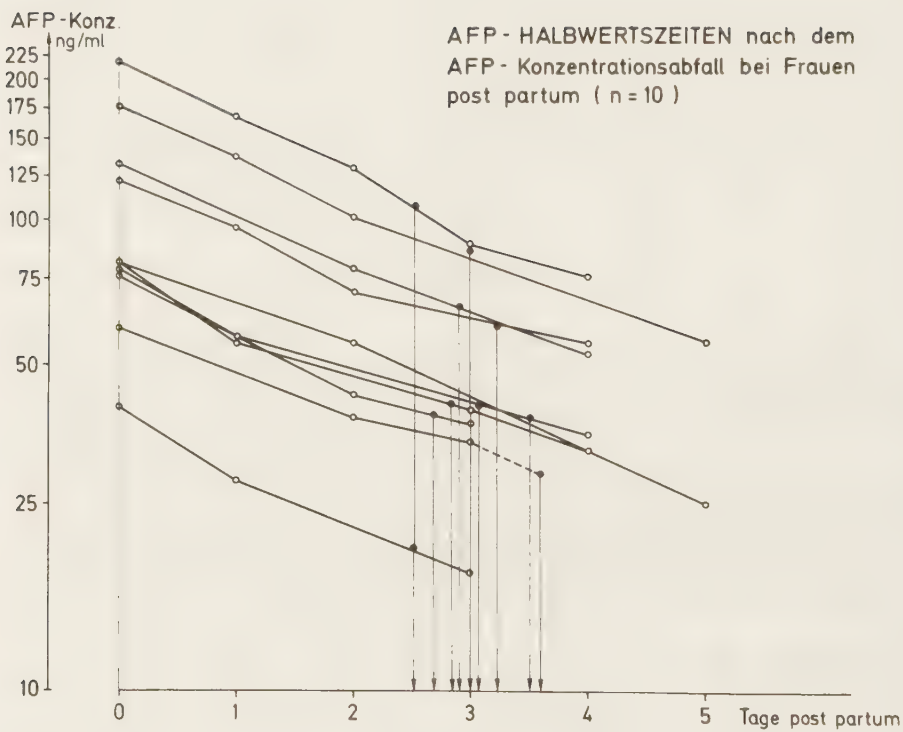


ABBILDUNG 10

TABELLE 6

PROTEINCLEARANCE BEI PHYSIOLOGISCH UND PATHOLOGISCH
VERLAUFENDEN SCHWANGERSCHAFTEN

Pat. Bezhg.	AFP- Clearance	Albumin- Clearance	Transferrin- Clearance	Ig G- Clearance	Korrel.- koeff.	Bemerkung
1. S.V. 32 J.	0.2802	0.0619	0.0845	0.1314	-0.061	klin. gesund
2. V.J. 28 J.	0.5871	0.0873	0.0610	0.1215	-0.3438	klin. gesund
3. B.S. 32 J.	1.0553	0.1323	0.1311	0.2912	-0.1746	klin. gesund
4. R.Ch. 33.J.	22.508	0.0724	0.0069	0.0802	-0.4247	D.mellitus
5. B.M. 27.J.	132.517	0.1071	0.0598	0.1165	-0.4984	D.mellitus
6. P.D. 21J.	5.4722	0.0849	0.0151	0.0515	-0.5192	Gestose
7. U.R. 23.J.	0.0463	0.2397	0.1757	0.1758	+0.3863	Anämie
8. F.G. 31 J.	4.1657	0.9552	0.2414	0.1307	-0.8587	Gestose
9. S.B. 33 J.	6.307	2.0585	1.7863	0.9443	-0.8335	D.mellitus Protein- urie
10. G.J. 23 J.	0.8965	1.5302	0.9453	0.57244	-0.8050	Protein- urie

AFP-Ausscheidung bestehen bei den einzelnen Patienten große Unterschiede. Drei Frauen, bei denen eine diabetische Stoffwechsellaage vorlag, zeigten die höchsten AFP-Clearancewerte.

4.7. AFP IM FRUCHTWASSER

4.7.1. AFP im Fruchtwasser normal verlaufender Graviditäten
In 50 klinisch unauffälligen Schwangerschaften untersuchten wir den AFP-Gehalt des Fruchtwassers. Die Amniozentesen wurden aufgrund einer Altersindikation bzw. einer Komplikation bei vorausgegangener Schwangerschaft oder aus anderen Gründen vor allem im Rahmen der genetischen Beratung (zytogenetische Untersuchungen) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 und Abb. 11 zusammengestellt.

23 Einzeluntersuchungen in der 15./16. SSW ergaben einen mittleren AFP-Gehalt von 16248 ng/ml + 4521 (VK 27.8 %).

Als Mittelwert der AFP-Fruchtwasserkonzentration in der 17./18. SSW ermittelten wir aus 15 Einzelwerten 14267 ng/ml + 7500 (VK 52,6 %).

Die große Standardabweichung und der dadurch vergrößerte Variationskoeffizient waren durch einen einzigen hoch gelegenen Wert bedingt. Sechs Fruchtwasserbestimmungen in der 19./20. Gestationswoche ergaben einen gemittelten AFP-Spiegel von 8967 ng/ml + 2264 (VK 25 %). Die sechs zwischen der 21. und 40. SSW erfolgten Einzelbestimmungen gehen aus Tab. 7 hervor und lagen kontinuierlich abnehmend zwischen 5700 und 170 ng/ml.

Nach unseren Untersuchungen fanden wir die höchsten AFP-Konzentrationen im Fruchtwasser im zweiten Trimenen um die 15./16. SSW, während mit zunehmender Dauer der Gravidität ein deutliches Absinken der AFP-Spiegel festzustellen war (Abb. 11).

4.7.2. AFP im Fruchtwasser bei Rh-immunisierten Schwangerschaften

Bei Rh-immunisierten Schwangerschaften bestimmten wir in 60 Proben den AFP-Gehalt im Fruchtwasser. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse ist in Tab. 8 wiedergegeben. Diese Graviditäten endeten teils spontan, teils nach Einleitung der Geburt zwischen der 36. und 40. SSW. Bei einem Teil der Neugeborenen mußte wegen der erfolgten Hämolyse ein Blutaustausch vorgenommen werden. Auch bei diesen Risikoschwangerschaften fanden wir mit der Dauer der Gravidität kontinuierlich abfallende, unauffällig niedrige AFP-Konzentrationen im Fruchtwasser. So bestimmten wir in der 27./28. SSW aus 8 Einzeluntersuchungen einen mittleren AFP-Gehalt von 2150 ng/ml, der in

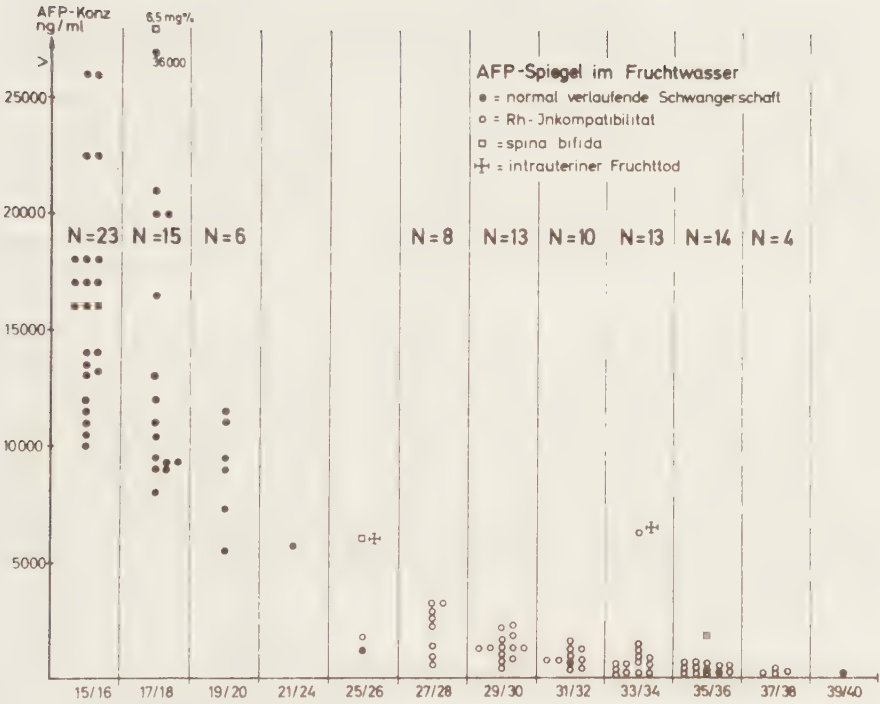


ABBILDUNG 11

TABELLE 7

ALPHAFETOPROTEIN im Fruchtwasser normal verlaufender Schwangerschaften

SSW	N	$\bar{x} + s$ ng/ml	Bereich	VK %
15/16	23	16248 + 4521	10000-30380	27,8
17/18	15	14267 + 7500	8000-36000	52
19/20	6	8967 + 2264	5500-11500	25
21	1	5700		
25	1	1200		
31	1	600		
36	2	200,240		
40	1	170		

TABELLE 8

AFP-Fruchtwasser-Spiegel bei RH-isoimmunisierten Schwangerschaften

SSW	N	$\bar{x} + s$ ng/ml	Bereich	VK %
26	1	1800		
27/28	8	2150 + 1006	680-3200	47
29/30	13	1370 + 510	620-2320	37
31/32	9	930 + 380	400-1520	42
33/34	13	630 + 360	170-1380	57
35/36	12	490 + 446	30-1800	91
37/38	4	235 + 121	100-380	52

der 29./30. SSW nur noch 1370 ng/ml betrug. In der 31./32. Gestationswoche fiel die AFP-Konzentration auf 930 ng/ml im Mittel ab. Für die 33./34. Woche errechneten wir einen mittleren AFP-Wert von 630 ng/ml, in der 35./36. SSW 490 ng/ml, in der 37./38. Woche 235 ng/ml (Tabelle 8).

Bei einer durch eine Rh-Immunisierung der Mutter gefährdeten Schwangerschaft bestimmten wir in der 28. Woche der Gravidität im Fruchtwasser eine mit 1540 ng/ml im Normbereich liegende AFP-Konzentration. Die in der 34. SSW erfolgte Kontrolluntersuchung ergab einen AFP-Spiegel von 6330 ng/ml. Einen Tag später trat ein intrauteriner Fruchttod ein.

Eine Zusammenstellung über die von uns durchgeführten Fruchtwasser-AFP-Bestimmungen zeigt Abb. 11. Sämtliche Werte wurden als Doppelbestimmungen im Radioimmunoassay der Fa. Dainabot ermittelt. Fruchtwasserproben des II. Trimenon wurden üblicherweise 1:100 verdünnt, im III. Trimenon genügte ein Ansatz 1:10.

4.7.3. AFP im Fruchtwasser bei sonstigen Erkrankungen

Abweichend von den Ergebnissen fanden wir in einem Fall einer in der 16. SSW gewonnenen Fruchtwasserprobe eine AFP-Konzentration von 65.000 ng/ml. Einen Tag später erfolgte ein Abort, der die Diagnose einer offenen spina bifida erbrachte.

Bei einer weiteren Patientin entwickelte sich in der 25. Woche der Gravidität ein akutes Hydramnion. Im Fruchtwasser fanden wir einen mit 6000 ng/ml übernormal hohen AFP-Gehalt. Die Schwangerschaft endete zwei Tage später mit dem intrauterinen Tod des Feten.

4.8. BESTIMMUNG DES AFP BEI HODENTUMOREN

Die bei den Patienten mit Hodentumoren erhobenen AFP-Befunde sind in Abb. 12 und 13 zusammengestellt.

4.8.1. Teratome

Wir untersuchten Serumproben von 38 Patienten mit histologisch gesicherten teratomatösen Hodentumoren (Abb. 12). 12 Serumwerte ermittelten wir präoperativ, bei den anderen wurden nur postoperative Bestimmungen, vorwiegend in den ersten 10 Monaten bis zu 11 Jahren nach dem chirurgischen Eingriff, durchgeführt.

8 der 12 präoperativ bestimmten AFP-Spiegel lagen im Bereich zwischen 100 und 1000 ng/ml. Postoperativ sanken die AFP-Konzentrationen in 7 von 8 Fällen innerhalb 1-2 Monaten, bzw. bei einem Patienten

AFP-Serumspiegel bei Patienten mit teratomatösen Hodentumoren (N=38)



ABBILDUNG 12

ten nach 10 Monaten zur Norm ab.

Bei einem Patient (Abb.12, Nr.25) kam es trotz Entfernung des Primärtumors mit anschließender Lymphadenektomie der paraaortalen metastatisch veränderten Lymphknoten zu einem weiteren Anstieg des Serum-AFP von 218 auf 6750 ng/ml. Das klinische Zustandsbild des Patienten hatte sich trotz Bestrahlung der Metastasen zunehmend verschlechtert. Es korrelierte mit dem beständig ansteigenden AFP-Gehalt im Serum des Patienten. Bei einer Kontrolle zwei Monate später bestimmten wir eine AFP-Konzentration von 2.4 mg%. Wenig später verstarb dieser Patient.

Bei zwei der 12 präoperativ untersuchten Fälle lagen die AFP-Konzentrationen mit 2 bzw. 5 ng/ml im Normbereich. Sie stiegen auch bei den postoperativen Kurzzeitkontrollen nicht ab. In einem Fall lag ein ausgedehntes teratoides Hodenkarzinom mit paraaortalen Lymphknotenmetastasen vor, im zweiten Fall konnte keine lymphatische Tumorausbreitung des teratoiden Carzinoms festgestellt werden.

Der Patient Nr.32 (Abb.12), von dem wir keinen präoperativen Ausgangswert bekommen konnten, zeigte zwei Monate nach der Operation noch stark erhöhte AFP-Werte von 286 ng/ml. Über einen Zeitraum von sechs Wochen wurde eine Bestrahlungsserie der tumorös infiltrierten Lymphknoten der paraaortalen, supraclavicularen, inguinalen und iliakalen Region mit Co₆₀ und ultraharten Röntgenstrahlen durchgeführt. Die Gesamtstrahlendosis betrug 17.000 R. Der Zustand des Patienten besserte sich nicht grundlegend. 13 Monate nach der operativen Therapie war der AFP-Spiegel trotz zusätzlicher zytostatischer Therapie mit 3700 ng/ml immer noch stark pathologisch verändert. Ebenso ging die Zunahme des AFP-Gehalts im Serum des Patienten Nr.5 (Abb.12), der 3 Monate nach der Entfernung des Primärtumors einen im Normbereich liegenden AFP-Gehalt aufwies, mit einer klinischen Verschlechterung des Allgemeinbefindens des Patienten einher. Nach Entfernung der metastatisch veränderten retroperitonealen Lymphknoten, sank der Serumspiegel weitere drei Monate nach dem Eingriff von 650 auf 90 ng/ml.

Bei Patient Nr.6 (Abb.12), der wegen eines malignen Teratoms mit teilweisem Übergang in ein teratoides Carzinom und Metastasierung entlang der paraaortalen Lymphknoten operiert wurde, war der AFP-Spiegel vor dem Eingriff mit 160 ng/ml deutlich pathologisch. Drei Wochen nach der Lymphadenektomie wurde ein im Normbereich befindlicher AFP-Wert gemessen. Weitere sechs Wochen später erbrachte eine Kontrolluntersuchung 83 ng/ml AFP im Serum des Patienten. Zu diesem Zeitpunkt befand sich dieser in der abklingenden Phase einer Virushepatitis. Vier Monate später war der AFP-Spiegel wieder zur Norm zurückgekehrt.

AFP-Serumspiegel bei Patienten mit Seminomen (N = 53)

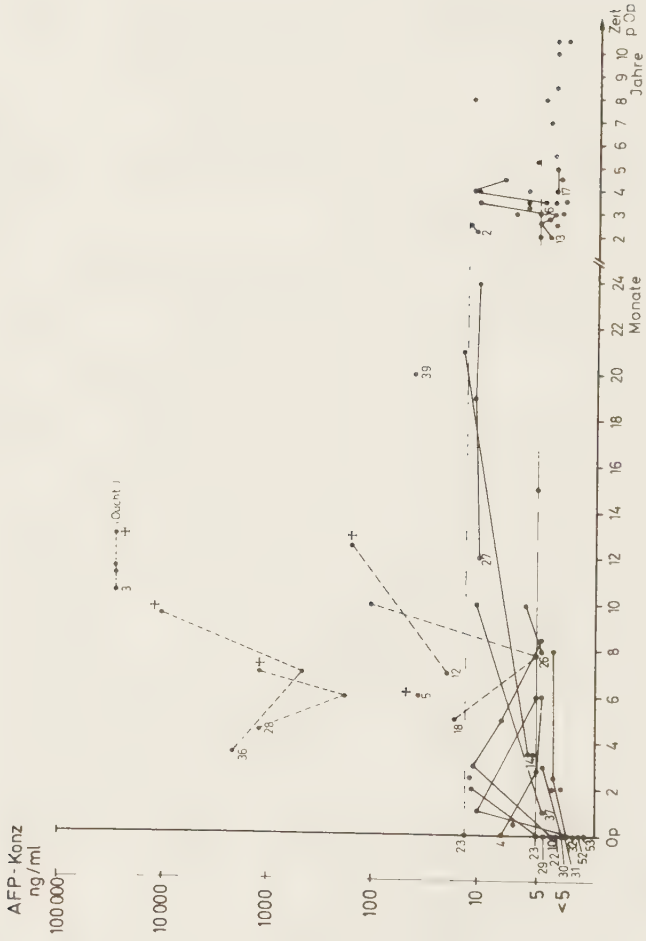


ABBILDUNG 13

4.8.2. Seminome

Im Vergleich zu den Patienten mit teratomatösen Hodentumoren lagen die AFP-Spiegel der Seminom-Fälle prä- und postoperativ fast ausnahmslos im Normbereich. Von den 11 präoperativ erfaßten Fällen lag nur ein mit 23 ng/ml grenzwertiger Befund vor. Insgesamt wurden 53 Patienten untersucht. In Abb.13 sind die AFP-Verläufe der Seminompatienten wiedergegeben. Es fallen 4 Patienten mit konstanter und einer mit beginnender Erhöhung der AFP-Konzentration auf. Die ersten vier Patienten sind bereits alle verstorben und weisen mit ihrer AFP-Konzentrationserhöhung auf eine deutlich schlechtere Prognose bzw. eine verkürzte postoperative Lebenserwartung hin. In einem Fall wurde bei der Sektion die ursprüngliche Diagnose eines metastasierenden Seminoms in die eines malignen Teratoms umgewandelt.

4.8.3. Andere Hodentumoren

Sechs Patienten, deren Serum wir präoperativ wegen des klinischen Verdachtes eines Hodenneoplasmas untersuchten, hatten AFP-Konzentrationen zwischen 1 und 24 ng/ml. Alle Fälle stellten sich intraoperativ als Epididymitiden dar.

Im Falle eines Patienten mit histologisch gesichertem HCG-produzierendem Chorionepitheliom des Hodens untersuchten wir postoperativ drei Serumproben, die mit 21, 27 und 47 ng/ml mäßig über die Norm erhöhte waren.

Der AFP-Spiegel eines Patienten mit Spindelzellsarkom des Hodens betrug vor Therapie 5 ng/ml.

4.9. AFP BEI GYNÄKOLOGISCHEN TUMOREN

Die AFP-Konzentrationen im Serum von 14 Frauen mit ovariellern Cystadenokarzinom lagen bis auf eine Ausnahme unter 12 ng/ml.

Diese Proben waren sämtlich postoperativ bestimmt worden.

Eine Patientin zeigte trotz operativer- und Radiotherapie eine AFP-Konzentration von 118 ng/ml.

Serenproben von zwei Patientinnen mit Teratomen des Ovars wurden nach Entfernung des Primärtumors von uns untersucht. In einem Fall fanden wir einen AFP-Spiegel von 5 ng/ml. Der Tumor dieser Patientin bot das histologische Bild einer Dermoidzyste (vorwiegend ektodermale Strukturen). Bei der zweiten Teratom-Patientin wurde ein AFP-Gehalt von 430 und 230 ng/ml bestimmt. Es handelte sich in diesem Fall um ein maligne entartetes Teratom, das sowohl operativ als auch zytostatisch therapiert worden war. Die Patientin verstarb wenige Wochen nach dem Eingriff an den Folgen ihres Grundleidens (Organmetastasierung).

AFP-Spiegel bei Hodentumoren im Vergleich zur Norm

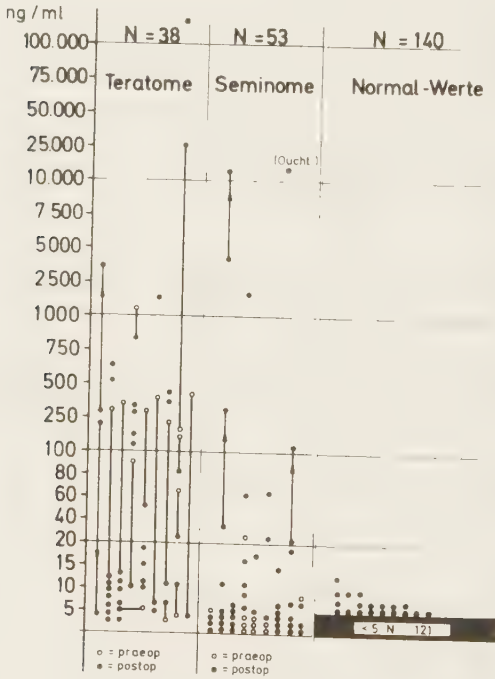


ABBILDUNG 14

Der AFP-Spiegel einer Patientin mit Chorionepitheliom des Uterus lag präoperativ bei 7 ng/ml. Unmittelbar nach dem operativen Eingriff stieg der AFP-Gehalt im Serum der Patientin auf einen Wert von 165 ng/ml; 11 Tage später war ein Kontrollwert mit 31 ng/ml nur noch mäßig über der Norm erhöht. Auf diesen wahrscheinlich operationsinduzierten Alphafetoproteinanstieg wird in der Diskussion näher eingegangen.

K A P I T E L 5

DISKUSSION

5.1. DISKUSSION DER METHODISCHEN ERGEBNISSE

Die Prüfung der Methode nach MANCINI zur quantitativen Bestimmung von Serumproteinen erbrachte eine gute Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse: die Variationskoeffizienten der AFP-Mehrfachbestimmungen auf verschiedenen M-Partigenplatten lagen zwischen 5.4 und 7.2%. Vergleichbare Werte werden von LAMERZ et al. bei der Untersuchung von 10 Serumproteinen auf käuflichen Immunodiffusionsplatten angegeben (107). AFP-Konzentrationen zwischen 5 und 28 mg/100ml lassen sich exakt und einfach auf den handelsüblichen M-Partigenplatten ermitteln. Ihr Nachteil liegt in der nicht für alle Zwecke ausreichenden Empfindlichkeit. Sie sind ungeeignet für Screening Untersuchungen zum Tumorausschluß, da nur ein geringer Anteil der Patienten mit Tera'o-Karzinom und Hepatom AFP-Serumwerte in dieser Größenordnung aufweist (Seite 63, Abb.14). Für die Bestimmung des AFP-Gehalts im Neugeborenenserum kann diese Methode jedoch empfohlen werden; ebenso eignet sich die einfache radiale Immunodiffusion zur Untersuchung des Alphafetoproteinspiegels in Amnionflüssigkeiten des I. Trimenons der Gravidität, da besonders bei der Früherfassung von Neuralrohrdefekten AFP-Fruchtwasserkonzentrationen in dem für die M-Partigenplatten angegebenen Meßbereich zu erwarten sind.

NORGAARD-PEDERSON empfiehlt zur quantitativen AFP-Bestimmung im Nabelschnurvenenblut die Elektroimmundiffusion nach Laurell (148). Diese Methode bietet den Vorteil der rascheren Antigen-Antikörper-Reaktion; die Ausmessung der longitudinalen Präzipitate ist einfacher und schneller. Durch Zweifachbestimmungen von 46 Nabelschnurseren auf je zwei verschiedenen Gelplatten untersuchten wir die Exaktheit dieser Methode. Dabei erhielten wir z. T. signifikante Unterschiede beim Vergleich der beiden AFP-Wertpaare (vgl. Seite 22). Beim Vergleich der beiden Methoden der einfachen radialen Immunodiffusion und der Elektroimmundiffusion konnten wir übereinstimmend mit Norgaard-Pederson keine signifikanten Differenzen feststellen. Die Errechnung der Regressionsgeraden erbrachte jedoch einen mit 0,81 relativ geringen Korrelationskoeffizienten, obwohl wir bei beiden Methoden mit ein und demselben Standardserum arbeiteten. Wir ziehen deshalb die einfache radiale Immunodiffusion der Elektroimmundiffusion vor.

Mit unseren selbstgegossenen Platten konnten wir die Empfindlichkeit durch Variation des Antikörpergehalts in der Gelschicht gegenüber den handelsüblichen Platten vergrößern. Die Präzipitationsringe waren bei einer Anti-AFP-Antiserumkonzentrationen zwischen 1 und 2 % für AFP-Bestimmungen unter 5 mg% groß genug, um ein exaktes Ausmessen zu garantieren. Die bei diesen niedrigen Antigenkonzentrationen schwache Präzipitatbildung wurde durch Anwendung der Färbetechnik, wie auf Seite 12 beschrieben, sichtbar. Coomassie brilliant blue eignet sich hierfür besonders, da es die Antigen-Antikörperkomplexe 5 bis 10 mal intensiver anfärbt als der üblicherweise verwendete Proteinfarbstoff Amidoschwarz (148).

Die radioimmunologische Bestimmung des Alphafetoproteins erlaubt es, Konzentrationen bis zu 5 ng/ml im Patientenserum nachzuweisen. Damit ist es möglich, geringe Abweichungen des AFP-Spiegels von dem gesunder Erwachsener zu bestimmen. Die physiologische Änderung des AFP-Gehalts im Serum Schwangerer war mit den Techniken der Gelpräzipitation nicht zu erfassen. AFP-Fruchtwasserspiegel im letzten Drittel der Schwangerschaft sind nur radioimmunologisch zu ermitteln. Eine besondere Bedeutung kommt der radioimmunologischen AFP-Bestimmung im Serum von Tumorpatienten zu. Ebenso können erhöhte AFP-Spiegel bei Lebermetastasen nur mittels Radioimmunoassay registriert werden. Die Exaktheit dieser Methode drückt sich in dem mit 9 % geringen Variationskoeffizienten aus, den wir in 15 verschiedenen Kits bei der Bestimmung eines Kontrollserums erhielten. Eine zweite Kontrolle, deren AFP-Gehalt wir 10 mal in unterschiedlichen Tests überprüften, zeigte einen Variationskoeffizienten von 18 %. Gassner (68) gibt für denselben käuflichen Assay eine Höchstabweichung von ± 50 % bei verschiedenen Tests an. Diese im Vergleich zu unseren Ergebnissen zu hohe Abweichung kann nur durch einen technischen Fehler erklärt werden; der Hersteller empfiehlt lediglich ein Abkippen des Überstandes über dem Immunkomplex nach der Zentrifugation. Unserer Erfahrung nach genügen jedoch bereits geringste Spuren im Reaktionsgefäß zurückbleibender Aktivität, um die Meßergebnisse erheblich zu verfälschen. Wir bemühten uns deshalb durch zusätzliches Auswischen der Gefäße mit Filterpapier nur die Radioaktivität des Immunpräzipitates im Counter zu erfassen.

Die Genauigkeit der radioimmunologischen Bestimmungsmethode wird demonstriert durch unseren Vergleich von auf Immunodiffusionsplatten bestimmten AFP-Konzentrationen in Nabelschnurseren, die wir ein zweitesmal in einer 1:1000 Verdünnung radioimmunologisch auswerten. Die Regressionsgerade aus 21 solcher Wertpaare hatte einen Korrelationskoeffizienten von 0,97.

RUOSLAHTI (164) bestimmte das Serum eines Hepatom-Patienten einmal radioimmunologisch und einmal mittels einfacher radialer Immundiffusion. Er beobachtete erhebliche Meßdifferenzen, die möglicherweise auf die mit 1:50000 bis 1:200000 sehr hohen Verdünnungsgrade zurückzuführen sind, die nötig waren, um das Patientenserum in dem wesentlich niedrigeren Meßbereich des Radioimmunoassays zu erfassen.

5.2. DISKUSSION DER KLINISCHEN ERGEBNISSE

5.2.1. AFP bei gesunden Erwachsenen

Bei der radioimmunologischen AFP-Spiegelbestimmung von 140 gesunden Erwachsenen lagen 86,5 % unserer Probanden unter 5 ng/ml. Ähnliche Beobachtungen machten Jonsson (98), Ishiguro (89), Lafon (106), Gassner (68), Delmont (52) und andere. Vergleiche dazu Tabelle 9, die eine Zusammenstellung der AFP-Normalwerte wie sie von verschiedenen Autoren angegeben werden, wiedergibt. Lediglich Ruoslahti (166) ermittelte einen relativ höheren AFP-Mittelwert im normalen Erwachsenenserum. Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich des AFP-Gehalts gesunder Personen wurden weder von uns noch von anderen Autoren beobachtet.

Die Tatsache, daß die überwiegende Mehrzahl gesunder Erwachsener AFP-Spiegel unter 5 ng/ml aufweist, veranlaßte Gassner (68), die oberste Normgrenze willkürlich bei 10 ng/ml festzulegen und AFP-Konzentrationen zwischen 5 und 10 ng/ml als "hochnormal" zu bezeichnen. Spiegel zwischen 10 und 50 ng/ml werden von ihm "tief-intermediär" genannt, solche zwischen 50 und 320 ng/ml, sind "hochintermediär". Darüberliegende AFP-Werte bezeichnet Gassner als "hoch".

Diagnostische oder prognostische Schlüsse aus mäßig erhöhten AFP-Konzentrationen zu ziehen, ist schwierig. AFP bildende Tumoren wie Terato-Carzinom und Hepatom müssen in jedem Fall ausgeschlossen werden. Geringgradige AFP-Erhöhen werden jedoch vor allem bei den verschiedensten Affektionen der Leber wie Hepatitis, Zirrhose und sekundärer Lebermetastasierung (170) beobachtet. Eine sorgfältige klinische Untersuchung der Patienten mit selbst geringen Abweichungen des AFP-Gehalts von der Norm ist daher unerlässlich.

RADIOIMMUNOLOGISCHE AFP-BESTIMMUNG IM SERUM VON
NORMALPERSONEN

(AFP-Konzentration in ng/ml)

Autor, Land, Jahr (Ref.)	N	$\bar{x}$	$\pm s$	Bereich
RUOSLAHTI & SEPPÄLÄ Finnland 1972 166	32	7,6	6,6	1 - 14
PURVES & PURVES Südafrika 1972 157	73	15		2 - 26
ISHIGURO & NISHIMURA Japan 1973 89	36 ¹			- 7
CHAYVIALLE et al. Frankr. 1973 43	105	2,3	1,2	
1974 44	136	3,8	1,3	
LAFON et al. Frankr. 1973 106	100 ²			- 5
JOHANNSSON et al. Schweden 1974 94	14	5,1		0,1 - 13,9
GASSNER & GROB Schweiz 1974 68	60 ²			59 unter 5
DELMONT et al. Frankr. 1974 52	100			96 unter 5 4 bis 8
WALDMANN & McINTIRE USA 1974 209	210 ²			- 40
KOBAYASHI Japan 1974 105	?			- 9,1
JONSSON & KRONVALL Schweden 1974 98	96			63,5% unter 5
MASSEYEFF et al. Frankr. 1974 132	192	2,6	1,6	
TONAMI et al. Japan 1975 217	24			- 30
eig. Untersuchungen BRD 1975	140 ³			86,4% unter 5 13,6% bis 14

1: junge Frauen; 2: Blutspender; 3: vorwiegend Rekruten

5.2.2. AFP und andere Serumproteine im Nabelschnurvenenblut
Die Abhängigkeit des AFP-Gehalts im Nabelschnurblut vom Reifegrad des Neugeborenen wird durch die signifikante Unterschiedlichkeit der Alphafetoproteinkonzentration unreifer, reifer und überreifer Kinder verdeutlicht. Maßgebend für den Reifezustand eines Säuglings ist in der Regel die Dauer der Gestation. Die Höhe des AFP-Spiegels im Neugeborenen Serum steht somit in einem umgekehrt proportionalen Verhältnis zur Gestationswoche. Dieser Zusammenhang wurde von uns bei 168 Kindern mit differierender Gestationsdauer und unterschiedlichem Reifegrad geprüft; es ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $-0,59$.

Unsere Erfahrungen sind mit denen anderer Autoren gut vergleichbar (21, 88, 101, 127, 150, 76, Tab.10). Norgaard-Pedersen war es durch exakte Kenntnis des Gestationstages möglich, eine Korrelation von $-0,89$ zwischen dem AFP-Spiegel im Neugeborenen Serum und der Gestationsdauer zu errechnen. Eine Schätzung des Entwicklungsalters eines Neugeborenen anhand seines AFP-Gehalts sei mit einem Fehler von nur ± 16 Tagen behaftet (150). Die Höhe des AFP-Spiegels bei der Geburt wird nach unseren Beobachtungen nicht allein durch die Dauer der Gravidität bestimmt. Die von uns untersuchten Risikoneugeborenen, die sämtlichst termingerecht zwischen der 38. und 42. Schwangerschaftswoche geboren wurden, hatten von den unreifen Säuglinge nicht signifikant unterschiedliche AFP-Spiegel. Möglicherweise erwirken Störungen während der Gravidität, -sei es von seiten der Mutter oder von seiten des Kindes-, über eine Entwicklungs- und Reifeverzögerung einen gegenüber gesunden Neugeborenen höheren AFP-Spiegel im Serum dieser Kinder. Ein bei der Geburt über den eines vergleichbaren Normalkollektivs vermehrter AFP-Gehalt im Nabelschnurblut läßt somit Rückschlüsse auf die Gestationsdauer und / oder Störungen im Verlauf der fetalen Entwicklung zu.

Der von uns aus 134 reifen Neugeborenen ermittelte mittlere AFP-Wert von 7.2 ± 3.6 mg% läßt sich mit den von anderen Autoren angegebenen Konzentrationen gut vergleichen (88, 124, 21, 76). Tabelle 10 gibt eine Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Nabelschnurkonzentrationswerte.

Eine Erklärung für die von LARDINOIS gefundenen deutlich höheren AFP-Spiegel reifer Neugeborener können wir nicht geben (111).

Unser AFP-Mittelwert von 18.4 mg% bei 23 zwischen der 32. und 40. Schwangerschaftswoche geborenen unreifen Kindern stimmt mit den Angaben GUIBEAUD' s und HYVARINEN' s (76, 88) überein. Auch die Ergebnisse MARKLEIN' s (127) und BERGSTRAND' s (21) über den AFP-Gehalt unreifer Neugeborener werden durch unsere Beobachtungen

AFP IN NABELSCHNURSERUM

SSW	N	AFP-Konzentration in mg%			Meth.	Autor, Land (Ref.)
		$\bar{x}$	$\pm s$	Bereich		
15 - 18	3	317,3			ERI	GUIBEAUD et al. Frankreich 76
28	1	55				
33 - 35	4	22,9		6 - 62		
36 - 37	15	14,1	7,5	3,8 - 29,3		
38 - 39	55	9,4	7,4	0 - 37		
40 - 41	69	6,1	5,6	0 - 42,4		
42 - 43	11	3,9	4,4	0 - 16,4		
22 - 27	2	60,2	2		ERI	HYVARINEN et al. USA 83
28 - 29	2	46	8			
30 - 31	7	46	17			
32 - 33	5	22	10			
34 - 35	7	29	7			
36 - 37	15	22	17			
38 - 39	30	9	7			
40 - 41	60	7	6			
reif	59	5,5	5	0 - 20	ERI	MARKLEIN, RINGS FRG 127
unreif	42	33	18			
28 - 37						
reif					ERI	LARDINOIS et al. Frankreich 111
38 - 42	47	16,6	15			
25 - 38	51	31	3		EID	BLRGSTRAND et al. Schweden 21
39 - 42	89	8	1			
unreif					ERI	eif. Unters. BRD
32 - 40	23	18,4	2,7	4,9 - 49,5		
überreif						
39 - 43	11	4,5	2,9	1 - 8,8		
Risiko						
38 - 42	46	14,0	9,9	1 - 45,6		
reif						
36 - 38	13	9,7	3,3	4,8 - 16,9		
39	15	9,1	2,6	5,5 - 15,5		
40	55	6,1	3,3	1 - 20		
41	27	8,0	4,0	2,5 - 16,0		
42	24	6,1	3,6	1,0 - 13,7		
38 - 42	134	7,2	3,6	1,0 - 20,0		

TABELLE 10

bestätigt.

Die wesentlich niedrigeren AFP-Konzentrationen überreifer Säuglinge ($\bar{x} = 4.5 \pm 2.9 \text{ mg\%}$) verdeutlichen noch einmal die Abhängigkeit der Höhe des AFP-Spiegels vom Reifezustand des Kindes.

Den unserer Erfahrung nach geringen Einfluß des Geburtsgewichts auf die AFP-Konzentration Neugeborener bestätigen die meisten anderen Autoren dadurch, daß sich die AFP-Spiegel reifer aber untergewichtiger Säuglinge nicht signifikant unterscheiden von denen normalgewichtiger reifer Neugeborener (21). Auch KARLSSON (101) und MARKLEIN (127) berichten in ihren Studien über eine schlechtere Korrelation des AFP mit dem Geburtsgewicht als mit der Gestationsdauer. Hingegen errechnete LARDINOIS (111) bei small-for-date Neugeborenen ein signifikant höheres Alphafetoprotein im Serum als bei normalen Kindern derselben Gestationsdauer. Somit ist seiner Erfahrung nach eine Unterscheidung unreifer und untergewichtiger reifer Neugeborener anhand der AFP-Konzentration nicht möglich.

Übereinstimmend beobachteten einige Autoren (21, 111, 76) z. T. signifikant höhere AFP-Spiegel bei reifen männlichen Neugeborenen gegenüber weiblichen.

Eine postnatale Synthese des Alphafetoprotein wird aufgrund des von verschiedenen Autoren beschriebenen exponentiellen Abfalls des Proteins im extrauterinen Leben der Neugeborenen ausgeschlossen (111, 127, 101, 76, 70). Lediglich Karlsson deutet den nahezu konstanten AFP-Spiegel zwischen dem 2. und 4. Lebenstag nach einem raschen Abfall in den ersten 4 bis 5 Stunden nach der Geburt als mögliche geringe Syntheserate (101). Gitlin gibt eine postnatale Halbwertszeit des Alphafetoproteins beim Kind für die Zeit unmittelbar nach der Geburt mit 5 Tagen an, nach einer Lebenswoche beträgt diese für den Säugling ca. 3 Tage (70). Eine Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht und der AFP-Abfallrate wird von SANANES (169) beschrieben. Er erstellte die Hypothese eines gesteigerten Katabolismus des Alphafetoprotein und / oder der rascheren Synthesenhemmung bei schweren Säuglingen. Vier Wochen nach der Geburt kann Alphafetoprotein nur noch in Ausnahmefällen mit der Methode der radialen Immundiffusion nachgewiesen werden (127).

AFP als Ersatz für die erst anlaufende Albuminproduktion im Fetalen wurde diskutiert. Dies müßte mit einer negativen Korrelation des Alphafetoproteins und des Albumins einhergehen. KARLSSON fand für diese Beziehung einen Wert von -0.41 , (101). Wir konnten mit unseren Beobachtungen diese Angaben nicht bestätigen. Die fehlende Korrelation zwischen AFP und Albumin geht auch aus den An-

gaben GITLIN's (70) hervor, der zwar einen kontinuierlich abfallenden AFP-Spiegel im Feten nachwies, gleichzeitig aber eine ab der 22. Entwicklungswoche nahezu konstante Albuminkonzentration -ähnlich dem Erwachsenenwert- beobachtete. Eine Korrelation AFP-Albumin könnte demnach allenfalls für die Zeit vor der 22. Gestationswoche bestehen, nicht jedoch zum Zeitpunkt der Geburt.

Eine Erklärung für die nicht vorhandene Korrelation zwischen AFP und den übrigen untersuchten Serumproteinen scheint darin zu suchen zu sein, daß diese unter dem Einfluß anderer Faktoren im Fetalleben gebildet werden: CHANG et al. (42) berichtet von einer positiven Korrelation des mütterlichen Transferringehalts mit dem des Kindes und nimmt an, daß sowohl die während der Gravidität bekanntlich höheren Konzentrationen von Transferrin, als auch das fetale Transferrin unter der Kontrolle diaplazentar permeabler hormoneller Faktoren im mütterlichen Organismus stehen (Progesteron, Östrogen).

Die Höhe des kindlichen Ig G - Spiegels (Tab.11) steht in direktem Zusammenhang zum mütterlichen Ig G. Obwohl GITLIN und BIASUCCI (71) über eine fetale Synthese in Leber, Milz und Thymus berichteten, scheint der Hauptanteil des kindlichen Ig G, sofern das Kind nicht mit Antigenen im Verlauf seiner Fetalentwicklung in Berührung kam, von seiner Mutter zu stammen. Für diese Befunde spricht auch die Angabe GITLIN's (70), der ein postnatales Absinken des Ig G-Spiegels mit einer Halbwertszeit von 25 Tagen beobachtete, während die Eigenproduktion erst allmählich anläuft.

Die Coeruloplasminkonzentration, die wir im Serum reifer Neugeborener maßen, betrug im Mittel 14.8 mg%. Sie ist mit den von anderen Autoren angegebenen Werten vergleichbar (Tab.11, 65, 83) und liegt unter dem Erwachsenen-Normmittelwert. α_2 -Makroglobulin, dem eine Östrogen bindende Eigenschaft zugeschrieben wird, lag mit 401 ± 104 mg% auch bei unseren Messungen im Neugeborenen Serum deutlich über dem Normbereich Erwachsener (Tab.11, 65). Weibliche Geschlechtshormone als Stimulus für eine gesteigerte Produktion dieses Proteins, das in der Gravidität und unter der Einnahme oraler Kontrazeptiva deutlich vermehrt im Serum vorliegt (54, 138), könnten eine mögliche Erklärung für die im Neugeborenen Serum höheren α_2 -Makroglobulinkonzentrationen darstellen (Tab.11).

Einen zusammenfassenden Vergleich der von uns gemessenen Proteinkonzentrationen im Nabelschnurvenenblut mit den von anderen Autoren angegebenen Werten zeigt Tabelle 11.

Die Serumproteinspiegel von normalen reifen und Risiko-Neugeborenen unterscheiden sich mit Ausnahme der AFP-Konzentrationswerte nicht signifikant voneinander. Störungen im Verlauf der Fetalentwicklung

SERUMPROTEINE DES REIFEN NEUGEBORENEN
(Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung)

N	Gesamt-Eiweiss g%	Albumin mg%	Alpha ₂ - Makrogl. mg%	Coerulo- plasmin mg%	Trans- ferrin mg%	IgG mg%	Autor, Land (Ref.)
48	6,3 $\pm 1,2$	3774 ± 748	401 ± 104	14,8 $\pm 6,3$	242 ± 86	1482 ± 353	eig. Untersuch- ung 1975
Risiko 21	6,2 $\pm 0,7$	3615 ± 775	364 ± 79	12,6 $\pm 5,1$	234 ± 87	1457 ± 460	
22		3420 ± 280	147 ± 19	14,6 $\pm 5,1$	56 ± 10	940 ± 180	GANROT Schweden 65
17		3570 ± 370					HYVARINEN et al. USA 88
69						1179 ± 46	KAISER et al. Ungarn 100
140						944 ± 376	SZABO et al. Israel 194
51				16,5 $\pm 0,9$			HILDERBRAND USA 83
106					179 ± 32		CHANG Malaysia 42

TABELLE 11

scheinen sich demnach am empfindlichsten auf die AFP-Konzentration und weniger auf die anderen Serumproteine auszuwirken.

5.2.3. Alphafetoprotein in der Schwangerschaft

Der von uns beobachtete AFP-Anstieg in der frühen Schwangerschaft deckt sich mit den Untersuchungen ISHIGURO's (89), der im mütterlichen Serum in der 14. Woche der Gravidität eine über die Norm erhöhte AFP-Konzentration beschreibt. SEPPÄLÄ berichtet (185), daß in der 8.-12. Gestationswoche die Hälfte der von ihm untersuchten Patientinnen AFP-Werte über 16 ng/ml aufwiesen.

Die ersten AFP-Anstiege wurden von uns bei zwei in der 11. Woche Schwangeren beobachtet. Im ersten Trimenon hatten 47% unserer Patientinnen einen deutlich erhöhten AFP-Titer.

Das von BROCK (28), ISHIGURO (89, 90) und SEPPÄLÄ (179, 180, 167) beschriebene Zunehmen der AFP-Konzentration im weiteren Verlauf der Schwangerschaft, konnten wir mit unseren Untersuchungen bestätigen. Vergleichbar mit den Angaben dieser Autoren waren auch unsere absolut gemessenen AFP-Spiegel (Tabelle 12), wenn auch der von SEPPÄLÄ angegebene Gesamtmittelwert für das III. Trimenon höher lag als unsere entsprechenden Ergebnisse ($\bar{x} = 324.1$ ng/ml $N = 18$). Der von uns gefundene Vergleichswert von 162 ng/ml wurde aus 50 Einzelbestimmungen gebildet und könnte somit eine repräsentativere Darstellung der tatsächlichen Verhältnisse wiedergeben. Der maximale AFP-Spiegel während der Gravidität wird zwischen der 28. und 36. Schwangerschaftswoche mit 500 ng/ml angegeben (184). ISHIGURO grenzt diesen Zeitraum zwischen der 35. und 38. Woche ein. Der höchste von ihm gemessene Wert bei einer normal verlaufenden Schwangerschaft betrug 386 ng/ml. Der von uns beobachtete AFP-Gipfel lag zwischen der 33. und 38. Woche der Gravidität, der höchste Wert war 406 ng/ml. COHEN (646) gibt mit 250 ng/ml einen deutlich niedrigeren oberen Grenzwert an. Seine Angaben sind jedoch wegen der verschiedenen angewandten Techniken nur bedingt vergleichbar.

Der nach dem maximalen AFP-Serumanstieg im mütterlichen Blut beschriebene Konzentrationsabfall auf Werte um 80 ng/ml (89) konnte mit unseren Untersuchungen nachvollzogen werden. Seppälä fand bei Geburt mütterliche Serumspiegel von im Mittel 195.1 ± 96 ng/ml (167, 180). Wir maßen bei 10 Frauen AFP-Konzentrationen zwischen 40 und 187 ng/ml. Der Mittelwert lag bei 103 ng/ml.

Die Diskussion, ob das im mütterlichen Serum während der Gravidität gegenüber der Norm erhöhte Alphafetoprotein mütterlichen oder fetalen Ursprungs sei, ist noch nicht endgültig abgeschlossen. ISHIGURO (89) glaubt wegen des AFP-Anstieges im Serum der Schwangeren während

des II. und III. Trimenons an eine Eigenproduktion der Mutter, da Berichten GITLIN's zufolge (70), die AFP-Konzentrationen im Feten ab der 13. Entwicklungswoche kontinuierlich abfallen. Eine positive Korrelation des AFP im Serum der Mutter und im Nabelschnurblut des Neugeborenen von 0.87 (181), sowie signifikant höhere AFP-Spiegel der Mutter bei Mehrlingsschwangerschaften, werden als Beweis für einen fetalen Ursprung des AFP im Serum der Schwangeren gewertet (66, 90, 91, 208). Der kontinuierliche steile Abfall des mütterlichen Alphafetoproteins nach erfolgter Geburt, könnte neben den fetalen Bildungsarten in der Leber und im Dottersack (155a, b, 189a, 205a, 101a) auf eine Synthese des AFP in der Plazenta schließen lassen (48, 192, 62a). LINDER (122) jedoch identifizierte mit der Technik der Immunfluoreszenz die kreisförmigen Anordnungen der fluoreszierenden Antikörper in der Plazenta als fetale Kapillaren. Er fand keine Speicherung im villösen Stroma oder im Trophoblasten. Die von einigen Autoren (178, 91) in Übereinstimmung mit unseren Untersuchungen beobachteten präoperativ normalen AFP-Spiegel bei Patientinnen mit Chorionepitheliom und Blasenmolen, machen einen plazentären Faktor, der seinerseits die AFP-Bildung in der mütterlichen Leber stimuliert, unwahrscheinlich. Eine weitere Tatsache, die gegen eine mütterliche Eigenproduktion des AFP spricht ist die vergleichende Betrachtung der AFP-Abklingquote, das in ähnlichen Konzentrationen in der Regenerationsphase akuter Virushepatitiden im Patientenssrum gemessen wird (68, 170); das wesentlich langsamere Absinken des AFP mit einer HWZ zwischen 9 und 20 Tagen bei Hepatitispatienten verglichen mit der HWZ bei Frauen post partum, für die wir einen gemittelten Wert von 2.98 Tagen errechneten, spricht für einen plötzlichen Wegfall der AFP-Produktionsstätte mit der Abnabelung des Kindes. Nach den Untersuchungen ISHIGURO's nimmt die AFP-Konzentration im Serum der Frauen nach der Geburt mit einer HWZ von 3.9 Tagen ab (89), SEPPÄLÄ gibt einen mittleren Wert von 5 Tagen an (185). Die Anti-AFP-Antikörpersuche wurde bis auf eine Ausnahme bei einer Patientin mit AuAG-positiver Virushepatitis und gleichzeitiger Kyrpräzipitatbildung (60a) von den meisten Autoren als erfolglos beschrieben (12, 98, 157, 167, 185). Eine Tolerierung fetalen Alphafetoproteins aufgrund eigener niedriger AFP-Konzentrationen könnte Ursache für die fehlende immunologische Reaktion auf Fremdprotein sein. Hinzu kommt die während der Gravidität gesteigerte Nebennierenrindentätigkeit, die durch einen höheren Cortisolspiegel die Immunantwort auf einen Antigenreiz vermindert. Das Verhalten des AFP im Serum gravider Frauen könnte als Funktion der Plazentadurchlässigkeit gewertet werden; die in der frühen Schwangerschaft bestehende 4-schichtige Plazentaschranke wird im 4. Monat

der Gravidität wesentlich dünner, da die meisten Zotten ihre Zytotrophoblastschicht und das die fetalen Gefäße umgebende Bindegewebe verlieren. Auf diese Weise ist eine wesentliche Verbesserung des Stoffaustausches in beiden Richtungen möglich, was mit dem Anstieg des AFP im mütterlichen Serum parallel geht. Gegen Ende der Schwangerschaft treten in der Plazenta Veränderungen auf, die als Anzeichen für einen verminderten Stoffaustausch gedeutet werden können; die Obliteration von Zottenkapillaren, die Verstärkung der Basalmembran fetaler Gefäße, sowie die Ablagerungen von Fibrinoid auf der Zottenoberfläche könnten durch einen erschwerten diaplazentaren Transport den Abfall des mütterlichen Serum-AFP gegen Ende der Gravidität erklären. Zusätzlicher Grund für diesen AFP-Abfall kurz vor der Geburt könnte die Produktionseinschränkung des AFP im fetalen Organismus aufgrund des präpartalen mütterlichen Östrogenabfalls im Sinne des Fehlens eines stimulierenden Faktors gewertet werden.

Den bei pathologischen Schwangerschaften in Zusammenhang mit einem fetal-distress-Syndrom beschriebenen signifikanten AFP-Konzentrationsanstieg im Serum der Mutter zum Teil bis auf Werte über 1000 ng/ml (156, 157, 180, 167, 184, 185) konnten wir durch unsere Untersuchungen von 23 Risikoschwangeren nicht bestätigen. SEPPÄLÄ beschreibt in seiner Studie über abnorme AFP-Werte im Serum von Frauen mit Risikoschwangerschaften (185), daß nur 15-25 % der Serumproben über der 97.5 Perzentile seiner Normwerte zu liegen kamen. Auch bei Rh₋ immunisierten Schwangeren (183) waren die AFP-Werte zwar höher als bei unauffällig verlaufenden Schwangerschaften, jedoch lagen nur 7 von 48 untersuchten Patientenseren außerhalb des Normbereichs. Bei konsekutivem Fruchttod waren es 68 % der Patientinnen, deren AFP-Spiegel deutlich über den gestationsnormalen Werten lagen (183). Auch wir bestimmten bei zwei Frauen, bei denen es in der 21. bzw. 40. Schwangerschaftswoche zum intrauterinen Tod des Feten gekommen war, deutlich über der Norm liegende AFP-Konzentrationen im Serum der Mutter. Es wurde jedoch auch von Risikoschwangerschaften berichtet, die mit intrauterinem Fruchttod endeten, bei denen unauffällige AFP-Werte bestimmt wurden (205).

Bis auf eine Ausnahme (80) wurde in der Literatur über AFP-Konzentrationsanstiege im Serum der Mutter berichtet, deren Kinder Neuralrohrdefekte (176) wie Anenzephalus (28, 29, 114, 115, 175, 176, 49, 84, 207), Meningomyelozele (144) und spina bifida (29, 116, 207, 125) aufwiesen. Diese exzessiv höheren AFP-Werte können jedoch nach dem Tod des Feten in utero unter die für die entsprechende Schwangerschaftswoche normalen Konzentrationen absinken (207).

AFP-Untersuchungen bei Frauen mit drohendem Abort im I. Trimenon

AFP IM SERUM GESUNDER SCHWANGERER
IN ABHÄNGIGKEIT VON DER SCHWANGERSCHAFTSWOCH

AFP-Konzentration in ng/ml						Meth.	Autor, Land (Ref.)
SSW	N	$\bar{x}$	$\pm s$	Bereich			
9	79			5	- 60	RIA	BROCK et al. Grossbrit. 29
12	51			10	- 105		
15	27			20	- 130		
16	29			30	- 130		
18	23			30	- 150		
20	22			40	- 180		
22	10			45	- 170		
23	20			40	- 190		
26	15			60	- 260		
28	11			70	- 280		
29	12			40	- 280		
26	?	140		95	- 192	RIA	ISHIGURO et al. Japan 89,90,91
29	?	183		110	- 250		
32	?	260		97	- 349		
33	?	172		100	- 359		
35	5	232,6		88	- 380		
36	4	253,3		104	- 386		
37	4	222,3		179	- 300		
38	6	185,7		104	- 320		
40	14	108,7		37	- 239		
41	5	86,5		44	- 142		
42	7	80,8		38	- 115		
I.TM							
5 - 13							
primi	8	10					
multi	12	25					
II.TM							
14 - 28							
primi	19	98,1		12	- 268		
multi	21	62,2		0	- 226		
III.TM							
29 - 39							
primi	23	215,8		88	- 386		
multi	21	170,6		39	- 320		
Geburt							
primi	14	98,6		38	- 239		
multi	13	95,6		37	- 176		
7 - 12	31	16		10	- 40	RIA	SEPPÄLÄ und RUOSLAHTI Finnland 167,179,180
13 - 18	27	50		18	- 150		
19 - 24	24	66		26	- 360		
I.TM	21	47,5	27,9	18	- 119		
II.TM	10	196,5	69,2	96	- 302		
III.TM	18	324,1	116,8	160	- 550		
Geburt	10	195,1	96,0				
18 - 22	15			20	- 165		
13 - 14	5	14,3	13,2	2,0	- 33,0	RIA	eig. Unters. BRD
15 - 18	4	50,0	18,9	23,0	- 67,0		
19 - 20	5	129,4	101,3	52,0	- 292,0		
21 - 22	4	101,5	52,9	47,0	- 147,0		
23 - 25	8	107,5	66,2	36,0	- 244,0		
27 - 28	6	195,8	68,4	112,0	- 278,0		
29 - 30	6	171,2	65,2	95,0	- 270,0		
31 - 32	5	176,2	32,5	124,0	- 205,0		
33 - 34	2	230					
35 - 36	5	210,8	117,7	98,0	- 405,0		
37 - 38	10	213,3	115,3	91,0	- 406,0		
39 - 40	20	119,8	66,1	40,0	- 244,0		
41 - 42	2	80,8					

der Gravidität ergaben keine signifikanten Unterschiede zur Norm, wohl jedoch im II. Drittel der Schwangerschaft, wo nur 2 von 12 Patientinnen mit normalen AFP-Werten einen Abort erlitten, aber 10 von 12 Frauen mit erhöhten AFP-Konzentrationen. AFP-Spiegel vor und nach Abort im I. Trimenon waren unauffällig, im II. Trimenon überwogen postoperativ erhöhte Spiegel (179).

Am Beispiel von 10 schwangeren Frauen versuchten wir, durch Bestimmung der Alphafetoproteinclearance den Ausscheidungsmodus dieses fetalen Proteins durch die mütterliche Niere zu erfassen. Vergleichbare Angaben anderer Autoren über absolute und relative Clearancewerte des AFP fehlen bisher.

Eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus der relativen Clearance und dem Logarithmus des Molekulargewichts der Serumproteine wurde in den ersten Clearanceuntersuchungen von Hardwicke und Squire am Beispiel des nephrotischen Syndroms mit massiver Filtrationseigenschaft der glomerulären Basalmembran zurückgeführt, deren Siebfunktion hauptsächlich vom lokalen Diffusionskoeffizienten und damit von der Molekülgröße abhängt. Mit der Erstellung der Hypothese der unselektiven tubulären Rückresorption glaubte man, daß die von der Filtereigenschaft des Glomerulum bestimmte Zusammensetzung des Primärharns mit dem relativen Eiweißverhältnis im Endharn übereinstimmt. Unter diesen Voraussetzungen könnte man aus der relativen Proteinclearance auf glomeruläre Läsionen schließen.

Viele Befunde und Untersuchungen (159) sprechen mittlerweile gegen diesen Zusammenhang zwischen Ausscheidungsrate und Molekulargewicht eines Proteins; vielmehr seien die Abweichungen von dieser linearen Beziehung auf eine individuelle tubuläre Resorption zurückzuführen.

TERVILÄ et al. untersuchte am Beispiel gesunder Schwangerer, sowie bei Graviden mit Proteinurie, Hypertension und Gestose die relativen Serumproteinclearances und konnte weder bei den gesunden noch bei den nierenkranken Patientinnen eine Abhängigkeit der Ausscheidungsrate von der Molekülgröße ermitteln (200). Der Autor macht die Form des Proteins mitverantwortlich für dessen Exkretion.

Bei sieben Schwangeren ohne Proteinurie bestand bei unseren Untersuchungen keine Korrelation zwischen der Ausscheidung und dem Molekulargewicht des Proteins, jedoch bei drei Patientinnen mit Proteinurie. Bei diesen entsprach die relative AFP-Clearance dem aus dem Molekulargewicht in etwa zu erwartenden Wert. Die absoluten Clearancewerte von Albumin, Transferrin und Ig G waren bei diesen Frauen deutlich gegenüber den Werten der übrigen Patientinnen erhöhte.

Die Selektivität der tubulären Rückresorption bei nierengesunden Personen wird am Beispiel unserer Patienten veranschaulicht, bei denen bis auf zwei Ausnahmen weitaus höhere AFP- als Albumin-Clearances errechnet wurden, obwohl die Molekulargewichte beider Proteine vergleichbar sind. Ebenso fällt bei allen unseren Probandinnen, bei denen keine Korrelation zwischen der Ausscheidung und dem Molekulargewicht der Proteine bestand, eine über 60 %ige Ig G-Clearance auf (Albumin = 100 %). Weitere Untersuchungen an gesunden und nierenkranken Schwangeren sind nötig, um dem Ausscheidungsmodus der Proteine unter diesen Voraussetzungen näher zu kommen.

5.4.2. AFP im Fruchtwasser

AFP-Fruchtwasserspiegel bei normal verlaufenden Graviditäten wurden von den verschiedensten Autoren beschrieben (59, 144, 175, 26, 158, 10, 177, 185, 32, 103, 145, 214). Eine Zusammenstellung dieser AFP-Werte gibt Tab. 13 wieder. Eine deutliches Absinken der AFP-Fruchtwasserkonzentrationen mit zunehmender Dauer der Schwangerschaft wird aus diesen Angaben ersichtlich. SEPPÄLÄ errechnete anhand von 56 Einzelproben einen Korrelationskoeffizienten von -0.695 ($p < 0.001$) zwischen der Gestationswoche und dem Fruchtwasser-AFP-Gehalt im Verlauf des II. Trimenons (177).

AFP-Messungen im Urin von Feten zwischen der 14. und 28. Entwicklungswoche erbrachten Werte zwischen 5900 und 48000 ng/ml; die entsprechenden Fruchtwasserproben lagen mit Konzentrationen zwischen 2000 und 26000 ng/ml deutlich niedriger (177). SEPPÄLÄ et al. schlossen daraus, daß die Hauptquelle des Fruchtwasser-AFP in der frühen Gravidität der fetale Urin darstelle, während im letzten Drittel der Schwangerschaft ein Teil des Alphafetoproteins im Fruchtwasser aus dem mütterlichen Kreislauf stammen müsse, da bei der Geburt der AFP-Gehalt des Neugeborenenurin niedriger ist als der des Fruchtwassers.

Unsere AFP-Bestimmungen in der Amnionflüssigkeit klinisch unauffälliger Schwangerschaften bestätigen die bisherigen Angaben in der Literatur. Abweichungen unserer Fruchtwasserkonzentrationswerte von denen anderer Autoren dürften ihre Begründung in der z. T. unterschiedlichen verwandten Untersuchungstechnik und den differierenden N-Zahlen finden.

Fruchtwasserbestimmungen bei Rh-isoimmunisierten Schwangeren erbrachten AFP-Konzentrationen, die mit denen normal verlaufender Graviditäten vergleichbar waren (177, 185, 32). Auch bei unseren durch eine Rh-Inkompatibilität komplizierten Schwangerschaften waren die AFP-Fruchtwasserspiegel nicht von den gestationsnormalen Wer-

ALP IM FRUCHTWASSER GESUNDER SCHWANGENDER FRAUEN					
IN ABHÄNGIGKEIT VON DER SCHWANGERSCHAFTSWOCH					
SSK	N	Bereich	ALP-Konzentration in ng/ml	Meth.	Author, Land (Ref.)
13 - 18	12	8000	~ 20000	ERI	FIELD et al. Australien 59
15	10		10200 - 35000	EID	NAVIN et al. Grossbrit. 214
16	7	15500		ZIE	STILLER et al. Grossbrit. 125
25 - 42	7	3100		ZIE	BROCK u. SUTCL. Grossbrit. 16
12 - 16	14	21000	4500	EID	PANDLE et al. Grossbrit. 153
17 - 21	8	15000	5100		
22 - 26	8	5000	2400		
27 - 31	19	2900	1900		
32 - 36	25	1000	1300		
37 - 41	19	500	800		
14	14			ZIE	ALLAN et al. Grossbrit. 10
15	6		15000 - 47000		
16 - 17	34		18000 - 36000		
16 - 19	19		0 - 35000		
20	11		0 - 34000		
22	3		0 - 15000		
23 - 24	5		0 - 5000		
26	3		0 - 3000		
26	32		1 - 61000		
8 - 9	6	13500	12300	EID	BROCK et al. Grossbrit. 52
10 - 12	22	19200	7000		
13 - 14	35	20200	8500		
15 - 16	61	15600	5900		
17 - 18	51	13500	6100		
19 - 20	18	6500	3600		
21 - 22	12	5500	2900		
23 - 24	12	2700	2100		
14 - 16	31	18100	32810*		EID
15 - 17	38	17050	32200		
16 - 18	39	16020	30350		
17 - 19	24	13380	27600		
18 - 20	23	10670	27570		
19 - 21	20	7930	15900		
20 - 22	19	6270	14110		
21 - 23	18	4830	13750		
22 - 24	21	4660	8760		
23 - 25	29	3900	7940		
24 - 26	37	3700	9350		
25 - 27	47	3150	5620		
26 - 28	78	2580	5540		
27 - 29	81	2150	4780		
28 - 30	85	1860	4560		
29 - 31	71	1420	2930		
30 - 32	86	1170	2600		
31 - 33	82	990	1980		
32 - 34	74	780	1820		
33 - 35	56	570	1320		
34 - 36	45	510	1350		
35 - 37	25	390	1190		
36 - 38	12	230	1420		
37 - 39	8	290	1420		
39 - 40	7	260	1420		
6 - 9	3	52000		ERI	ALIJJER et al. Niederlande 103
10 - 12	16	31000	46 - 62000		
13 - 15	16	28000	19 - 38000		
16 - 18	30	25000	18 - 42000		
19 - 21	12	14000	12 - 35000		
22 - 24	5	5000	7 - 23000		
23 - 36	8	5000			
10 - 12	37	29000	7500	ERI	WISNIEWSKI Polen 214
21 - 24	4		3200 - 5200	EID	WHILEY et al. Grossbrit. 213
25 - 28	7		1800 - 5500		
29 - 32	10		1000 - 1700		
33 - 38	14		1000 - 2200		
15 - 18	26	8600	2600 - 17500	ERI	HOLTER et al. USA 110
19 - 22	11	4200	2400 - 9100		
36 - 40	10		165		
11. TM	5		2800 - 26000	RIA	SILPPALA und RUOSLAHTI Finnland 177
11. TM	59		15 - 535		
21 - 34	2	425			
35 - 36	4	316			
37 - 38	10	164			
39 - 40	24	115			
41 - 42	19	87			
15 - 16	23	16245	4521	RIA	DIT. U. 215
17 - 18	15	14267	7500		
19 - 20	6	4967	2264		
21	1	575			
23	1	1200			
31	1	600			
39	2	270			
40	1	170			

ten zu unterscheiden. SEPPÄLÄ (183) bestimmte bei diesen Risikoschwangerschaften ebenfalls unauffällige AFP-Konzentrationen. WHYLEY (212) berichtet, daß selbst bei schweren RH-Erkrankungen nur 42 % der von ihm untersuchten Fälle übernormal hohe AFP-Werte aufwiesen. Von BROCK und SUTCLIFFE (26), sowie anderen Autoren (10, 28, 59, 80, 115, 158, 141, 145, 27, 31, 32, 49, 41, 84, 103, 104, 125) Wurde bei Verdacht auf Anencephalie oder spina bifida die frühzeitige AFP-Bestimmung in der Amnionflüssigkeit vorgeschlagen. Bei diesen Mißbildungen wird mit Ausnahme von gedeckten Defekten der Neuralrinne (80) durch ein vermehrtes Durchsickern von fetalem Serum - AFP über die Cerebrospinalflüssigkeit (spina bifida) bzw. durch eine gesteigerte Transsudation durch den plexus chorioideus (Anencephalus) ein Anstieg des Fruchtwasser-AFP vermutet. Eine Möglichkeit der frühzeitigen Diagnosestellung dieser Mißbildungen anhand des AFP-Spiegels in der Amnionflüssigkeit scheint somit gegeben. Auch wir fanden bei einer Patientin in der 16. Schwangerschaftswoche eine mit 65000 ng/ml exzessiv hohe AFP-Konzentration im Amnionpunktat. Die Obduktion des Feten bestätigte den Verdacht eines Defektes der Neuralrinne.

Ebenso waren in beiden Fällen, in denen die Gravidität mit dem intrauterinen Tod der Feten endete, die AFP-Konzentrationen im Fruchtwasser höher als die gestationsnormalen Werte. Übereinstimmende Beobachtungen anderer Autoren, die über einen steilen AFP-Anstieg im Fruchtwasser bei intrauterinem Tod des Kindes berichten, finden wir in der Literatur (176, 185, 84, 214). Die Änderungen des AFP-Gehalts sind in diesen Fällen im Fruchtwasser frühzeitiger und stärker zu verzeichnen als AFP-Anstiege im mütterlichen Serum (176, 185).

Erwähnt seien noch die Mitteilungen SEPPÄLÄ' s über AFP-Fruchtwassererhöhungen bei kongenitaler Nephrose (177), Ösophagusatresie (182), sowie kürzlich die Beobachtung, daß 2 von 4 Fällen mit Hydrozephalus eindeutig über der Norm liegende AFP-Fruchtwasserwerte zeigten (186).

Eine Überwachung von Risikoschwangerschaften mit fortlaufender Bestimmung des AFP-Gehalts in der Amnionflüssigkeit scheint sinnvoll.

5.2.5. AFP bei Hodentumoren und gynäkologischen Tumoren

Der Anteil germinaler Hodentumoren an der Gesamtzahl aller Neoplasmen des Mannes beträgt 0,5 bis 2 %. Ein gehäuftes Auftreten dieser Tumoren ist bei Männern zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr zu beobachten (96, 142). Aus Untersuchungsgruppen in der Literatur errechnete man eine statistisch relevante Altersverteilung;

teratomatöse Tumoren treten vorwiegend zwischen dem 25. und 29. Lebensjahr auf, Seminome hingegen gehäuft in der Altersgruppe der 35-39 Jährigen (142). Betrachtet man die Krebstodesfälle der 15 bis 35-jährigen Männer gesondert, so beträgt der Anteil der an den Folgen eines Hodenkarzinoms Verstorbenen 11 - 13 % (82).

Die Ätiologie der Neoplasmen des Hodens ist weitgehend unbekannt. Genetische Faktoren werden diskutiert, ebenso wird eine primäre Fehlanlage des Keimdrüsengewebes für die Tumorenentstehung verantwortlich gemacht. Traumen als Ursache für die Entwicklung eines Hodenneoplasmas kommen kaum in Frage, ebenso wie die bei Kryptorchismus für die Testes unphysiologische Temperatur im Leistenkanal eine Rolle spielen dürfte (82, 96). Der Verdacht eines malignen Tumors des Hodens ergibt sich aus Anamnese und Palpationsbefund. Eine Möglichkeit präoperativ mit Sicherheit eine bösartige Geschwulst nachzuweisen war nicht gegeben (211), bis ALELEV et al. auf das Vorkommen des Alphafetoproteins bei Teratoblastomen des Hodens und des Ovars hingewiesen hatten (4). Zahlreiche Studien wurden seitdem veröffentlicht, in denen bei Terato-Karzinom des Hodens (3, 14, 24, 25, 87, 130, 137, 135, 190, 202), des Ovars (130, 204), retroperitonealen (8, 87) mediastinalen und sacrococcygealen (58, 81, 130, 134, 139, 143, 201, 202) embryonalen Neoplasmen bei Erwachsenen in 15 - 20 %, im Kindesalter in 70 - 80 % der Fälle (87, 136) ein positiver AFP-Befund erhoben werden konnte. ELGORT und Mitarb. (57) fanden mit der empfindlichen indirekten Methode der Immunoradszintigraphie Alphafetoprotein bei 19 von 21 Patienten mit Hodenteratoblastom. Diese im Erwachsenenalter relativ geringe AFP-Positivität (201) kann durch die in den meisten bisherigen Studien angewandte weniger empfindliche Nachweismethoden der Ouchterlony-Technik, der Elektroimmundiffuion und der radioalen Immunodiffusion erklärt werden. Berichte über radioimmunologische AFP-Bestimmungen bei Patienten mit Hodentumoren sind noch wenig zahlreich: Abelev (186) beobachtete, daß mit der Technik der Gelpräzipitation nur 45 % der von ihm untersuchten Patienten mit embryonalen Neoplasmen des Hodens übernormal hohe AFP-Konzentrationen aufwiesen; bei der radioimmunologischen Untersuchung der falsch-negativen Analysen zeigten jedoch 75 % dieser Patienten pathologische AFP-Werte. Auch Waldmann (209) berichtet von einer 75 %igen AFP-Erhöhung (über 40 ng/ml) bei seinem Patientengut mit embryonalen Hodentumoren. Die Untersuchungen Gassners et al (68) ergaben bei 10 von 20 Patienten mit Teratomen präoperativ AFP-Werte über 500 ng/ml (Überwanderungselphor). 5 Patienten zeigten "tief-intermediäre Konzentrationen" zwischen 10 und 50 ng/ml im Radio-

immunoassay. Wharen (206) beschreibt eine Korrelation des AFP-Spiegels zur Progression und Regression der Tumorkrankheit. Geheilte Patienten wiesen im Radioimmunoassay im Normbereich liegende AFP-Konzentrationen auf.

Die von uns untersuchten Serumproben von 38 verschiedenen Patienten mit teratomatösen Hodentumoren ergab lediglich bei 2 von 12 präoperativ bestimmten Analysen im Normbereich liegende AFP-Spiegel. In 83,3 % der präoperativen Serumproben konnten wir einen Hinweis auf die später durch die Histologie gestellte Diagnose eines teratoiden Karzinoms geben. Gründe für die Normwerte der beiden Patienten mit embryonalen Neoplasmen des Hodens können wir nicht geben. Esterhay et al. (58) beobachteten bei einem Mädchen mit Terato-Karzinom des Ovars im Anschluß an die operative und cytostatische Therapie eine Abnahme des AFP-Gehalts im Serum der Patientin, obwohl es zu massiven Tumorrezydiven gekommen war. Da der Primärtumor überwiegend aus unreifen neuralen Elementen bestand, die Rezidive jedoch vorwiegend reifes Gliagewebe beinhalten, diskutieren diese Autoren eine AFP-Produktion bei teratomatösen Geschwülsten durch unreife neurale Zellen. Die überwiegende Mehrzahl der Autoren macht jedoch Dottersack-Elemente für die Synthese bei embryonalen Tumoren verantwortlich (6, 23, 104, 201, 213, 199, 195, 93). Da die bisherige Klassifikation der germinalen Tumoren die zellulären Elemente, die eine AFP-Erhöhung im Patientenserum zu bewirken scheinen, nicht berücksichtigt, wird eine neue histogenetische Einteilung dieser Geschwülste von Teilum (199) vorgeschlagen: nach ihm wird das embryonale Karzinom untergegliedert in Neoplasmen, deren Strukturen extraembryonale Elemente enthalten - zu diesen zählt das Chorioncarzinom und der Endodermal-Sinus-Tumor, - sowie Tumoren mit embryonalen Strukturen des Ecto-Endo- und Mesoderms, das sog. Teratom (vgl. Abb.15). AFP-Konzentrationsanstiege im Patientenserum sind nur zu erwarten bei Tumoren mit Dottersack-Endoderm ähnlichen Zellen. Bei den Verlaufsbeobachtungen unserer Patienten mit Terato-Carzinom des Hodens ergab sich in allen Fällen eine Korrelation des Alphafetoproteinspiegels zum klinischen Zustandsbild der Patienten. Wenn keine Progradienz des Grundleidens festgestellt werden konnte, die Diagnose bereits mehrere Jahre zurücklag und die Patienten als klinisch geheilt betrachtet werden konnten, lagen die radioimmunologisch bestimmten Serum-AFP-Werte im Normbereich. Übereinstimmende Beobachtungen beschreiben Wharen et al. (206) in der Literatur. Die klinische Bedeutung der Alphafetoproteinbestimmung bei teratomatösen Hodentumoren liegt demnach weniger in der Früherfassung (40,187), als vielmehr in der Erfolgskontrolle ihres Therapiever-

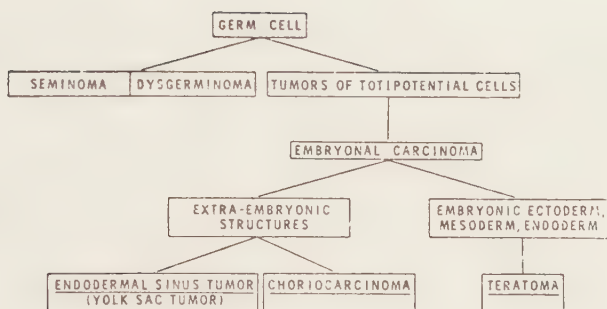


ABBILDUNG 15

Histogenese und Beziehung von ovariellen und testikulären Tumoren embryonalen Ursprungs. In dieser Einteilung ist die Bezeichnung "embryonales Carzinom" ausschließlich für Tumoren verwendet, die aus undifferenzierten omnipotenten embryonalen Zellen bestehen, welche in ihrer undifferenzierten Form sowohl extraembryonale, als auch embryonale Tumortypen repräsentieren. (nach Teilum, 199)

laufes (24, 33, 57, 102, 133, 136, 202, 203). AFP-Konzentrationsbestimmungen könnten jedoch auch die vor allem bei Mischtumoren schwierige histologische Beurteilung erleichtern, die eine unbedingt notwendige Voraussetzung für die optimale Therapie eines Tumors darstellt.

Die AFP-Bestimmungen unserer Seminom-Patienten lagen bis auf die beschriebenen Ausnahmen im Normbereich. Unsere Beobachtungen stimmen demnach mit den in der Literatur beschriebenen Angaben überein (2, 4, 14, 25, 206).

Gründe für die AFP-Erhöhung im Serum einiger Seminom-Patienten können wir nur vermuten. Eine mögliche Erklärung könnte durch eine sekundäre Lebermetastasierung des Primärtumors gegeben werden. Diese wird als Ursache für einen AFP-Konzentrationsanstieg bei vielen anderen Tumoren beschrieben (5, 22, 118, 119, 24).

AFP-Erhöhlungen bei Seminom-Patienten sollten aber in jedem Fall Anlaß genug sein, die histologische Diagnose noch einmal zu über-

prüfen. Das Vorliegen eines Mischtumors muß mit Sicherheit ausgeschlossen werden, da sich in einem solchen Fall für den Patienten unter Umständen lebensrettende therapeutische Konsequenzen ergeben.

Auch der bei einer Patientin mit Cystadeno-Carzinom des Ovars deutlich erhöhte AFP-Spiegel legt den Verdacht des Vorliegens sekundärer Lebermetastasen nahe, da üblicherweise bei dieser carcinomatösen Umwandlung einer Ovarialzyste keine AFP-Konzentrationsanstiege beobachtet werden (215).

Das im Normbereich liegende AFP im Serum einer Patientin mit einem ektodermalen Teratom des Ovars scheint erklärlich, wenn man für die AFP-Produktion endodermale Strukturen verantwortlich macht. Übereinstimmend mit anderen Autoren (130, 204) beobachteten wir bei einer weiteren Patientin mit malignem Terato-Carzinom des Ovars massive AFP-Konzentrationsanstiege.

Der präoperativ im Normbereich liegende AFP-Gehalt im Serum einer Patientin mit Chorionepitheliom deckt sich mit den Beobachtungen ISHIGURO's (91) und SEPPÄLÄ's (178), der AFP-Spiegelkontrollen während der Gravidität zur Abgrenzung einer Blasenmole oder eines Chorioncarzinoms vorschlägt, da der HCG-Nachweis lediglich Ausdruck einer trophoblastischen Tätigkeit ist, die Anwesenheit eines Feten jedoch nicht beweise.

Eine Erklärung für die postoperativ erhöhten, aber kontinuierlich absinkenden AFP-Spiegel dieser Patientin mit Chorion-Ca, könnte (170, 109) die mittlerweile beschriebene Tatsache sein, daß Manipulationen an der Leber - wie sie bei dieser Patientin intraoperativ auf der Suche nach Lebermetastasen stattfanden - genügen, um bedingt durch Regenerationsvorgänge eine postoperative AFP-Erhöhung zu erzielen.

ZUSAMMENFASSUNG

-Fetoprotein (AFP) gehört mit dem carcinoembryonalen Antigen CEA zu den bekanntesten und bedeutsamsten carcinofetalen Antigenen des Menschen. Die besondere Bedeutung des -Fetoprotein liegt in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung des primären Lebercarzinoms, embryonaler Tumoren sowie Schwangerschaftsüberwachung. In dem methodischen Teil der Arbeit werden die Empfindlichkeit, Reproduzierbarkeit und Exaktheit von 3 Methoden, radialer Immundiffusionstest nach MANCINI, Elektroimmunodiffusion nach LAURELL und Radioimmunoassay untersucht. Die drei erwähnten Methoden wurden miteinander verglichen und ihr Anwendungsbereich umrissen. Die Prüfung der Methoden der radialen Immundiffusionstest nach MANCINI (Partigenplatten der Fa. Behringwerke) erbrachte gute reproduzierbare Meßergebnisse. Der Variationskoeffizient betrug bei 6-fach Bestimmungen (in der Serie) bei einer Konzentration von 6,8774 4,88 %. Die Bestimmung einer Serumprobe auf 10 verschiedene Immundiffusionsplatten ergab Variationskoeffizienten zwischen 5,4 % bei einer AFP-Konzentration von 6,612 mg% und 7,2 % bei einer AFP-Konzentration von 14,737 mg%. AFP-Konzentrationen zwischen 5 und 28 mg/100 ml lassen sich exakt und einfach auf die handelsüblichen M-Partigenplatten ermitteln. Ihr Nachteil liegt in der nicht für alle Zwecke ausreichenden Empfindlichkeit; sie sind ungeeignet für Screening-Untersuchungen zum Tumorausschluß, da nur ein geringer Anteil der Patienten mit Terato-Carzinomen und Hepatom AFP.-Serumwerte in dieser Größenordnung aufweisen. Für die Bestimmung des AFP-Gehalts im Neugeborenen Serum kann diese Methode jedoch empfohlen werden, wie auch zur Untersuchung des -Fetoproteinspiegels in Amnionflüssigkeit des ersten Trimenons.

Zur quantitativen AFP-Bestimmung im Meßbereich zwischen 6,25 und 0,5 mg% wurden eigene Gelplatten mit einem Antikörpergehalt zwischen 1 und 2% angefertigt, die genau so gute reproduzierbare Ergebnisse zeigten wie die handelsüblichen M-Partigenplatten.

Die Elektroimmunodiffusionsmethode nach LAURELL zeigte bei 8-fach Bestimmungen einen Variationskoeffizienten zwischen 3,45 % bei einer AFP-Konzentration von 2,9344 mg% und 9,87 % bei einer Konzentration von 3,325 mg%. Bei Doppelbestimmungen verschiedener Diffusionsplatten wurde bei 13 von 46 Serumproben signifikante Konzentrationsunterschiede festgestellt. Beim Vergleich der beiden Methoden der einfachen radialen Diffusionstests und Elektroimmunodiffusionstests nach LAURELL konnten wir keine signifikante Differenzen feststellen; die aus 67 Wertpaaren errechneten Korrelations-

koeffizienten betrug jedoch nur 0,8. Die LAURELL-Technik bietet den Vorteil der raschen Befundermittlung, wir ziehen jedoch den einfachen radialen Immunodiffusionstest nach MANCINI dem Elektroimmunodiffusionstest nach LAURELL vor.

Die radioimmunologische Bestimmung des AFP stellt eine 500 bis 1000-fache empfindlichere Nachweismethode gegenüber den beiden genannten Verfahren dar. Mit dem von uns verwendeten Test der Fa. ABBOTT GmbH konnten Konzentrationen im Bereich von 320 bis 5 ng/ml nachgewiesen werden. Der Variationskoeffizient betrug bei einem Kontrollserum mit einer mittleren Konzentration von 138,83 ng/ml in 15 verschiedenen Kits 9,01%. Ein signifikanter Unterschied der AFP-Werte, die einmal radioimmunologisch und mittels einfachen Radioimmunodiffusionstest nach MANCINI festgestellt wurden, bestanden nicht.

Durch die Einführung der radioimmunologischen Bestimmungsmethode mit einer unteren Empfindlichkeitsgrenze um 5 ng/ml würde eine systematische Untersuchung der Bedeutung von AFP bei malignen wie nicht malignen Erkrankungen und bei physiologischen Zuständen, vor allem in Zusammenhang mit der Schwangerschaft erst möglich. Wie auch die Bestimmung der AFP-Konzentrationen bei Normalpersonen. Bei 121 von 140 klinisch gesunden Probanden (86,4%) lagen die mit Radioimmunoassay bestimmten AFP-Spiegel unter 5 ng/ml, bei den restlichen 19 Fällen zwischen 5 und 14 ng/ml. Die obere Normgrenze liegt somit bei 14 ng/ml; die Konzentrationen zwischen 5 und 10 ng/ml kann man als hoch normal bezeichnen.

Um das Verhalten von AFP in Serum von Neugeborenen unterschiedlichem Reifegrad zu untersuchen, bzw. die Beziehung zwischen dem Reifegrad und -Fetoprotein-Konzentration festzustellen, würden die AFP-Konzentrationen in Nabelschnurseren von 134 gesunden, reifen Neugeborenen, 25 unreifen und 46 Risikoneugeborenen sowie bei 11 überreifen Kindern bestimmt. Der gemittelte AFP-Spiegel bei reifen Neugeborenen wurde mit $7,2 \pm 3,6$ errechnet. Die Werte lagen zwischen 1 und 20 mg%. Statistisch erfaßbar waren die unterschiedlich hohen AFP-Konzentration der in der 36.-39. Gestationswoche und der in der 40. bzw. 42. Schwangerschaftswoche geborenen Kindern. Nicht signifikant war die Gruppe der in der 41. Entwicklungswoche zu den in der 36.-39. Woche Geborenen bezüglich ihres AFP-Gehaltes im Nabelschnurserum. Die AFP-Konzentration bei unreifen Neugeborenen war bei einem Mittelwert von $18,4 \pm 2,68$ mg% (4,9 - 49,5 mg) deutlich höher als bei den reifen Neugeborenen. Über dem Normmittelwert lag auch der AFP-Spiegel der 46 Risikoneugeborenen mit einem Mittelwert von $14 \pm 9,95$ mg%. Hier ist die breite Streuung von 1 - 45,6 mg% auffällig. Bei 11 überreifen Kindern war die AFP-Konzentration mit $4,5 \pm 2,9$ mg% (1-8 mg%) unter dem Normbereich. Die Gruppe der

reifen Neugeborenen unterschied sich somit in ihrem AFP-Gehalt signifikant von der Gruppe der unreifen und Risikoneugeborenen, ebenso wie die AFP-Spiegel der kollektiv unreifen und überreifen Kindern. Die Höhe des AFP-Spiegels im Neugeborenen Serum steht in einem gewissen umgekehrten Verhältnis zur Gestationswoche wenn auch nach unseren Untersuchungen keine statistisch zu sichernde Beziehung zwischen dem AFP-Spiegels und Gestationsalter besteht (Korrelationskoeffizient = -0,59). Hinsichtlich der Konzentration vom Albumin, Coeruloplasma, α_2 -Makroglobulins, Transferrins, IgG und Gesamteiweiß bestand zwischen den gesunden und Risikoneugeborenen keine signifikante Unterschiede. Die Höhe des AFP-Spiegels wird nach unseren Beobachtungen nicht allein durch die Dauer der Gravidität bestimmt. Eine Korrelation zwischen der AFP-Konzentration und irgendeine der untersuchten Proteine, insbesondere des Albumins konnte nicht festgestellt werden. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse kann gesagt werden, daß die Störung im Verlauf der Fetalentwicklung sich am empfindlichsten auf die AFP-Konzentrationen auswirken und wenig auf die anderen Serumproteine.

Bei 91 gesunden Schwangeren wurde der AFP-Gehalt im Serum untersucht um ihr Verhalten im Verlauf der normalen Gravidität festzustellen. In der 11. Woche der Gravidität zeigten 2 von 5 Probandinnen erstmalig eine über dem Normmittelwert liegenden Konzentrationen. In 13./14. Woche zeigten 50% der Schwangeren erhöhte AFP-Titer. Im 2. Trimenon hatten alle über der Norm erhöhte AFP-Spiegel. Ein signifikanter Unterschied der im 2. Trimenon gemessenen Werte zu denen des ersten Trimenons wurde festgestellt. Als Gesamtmittelwert für das 2. Drittel der normal verlaufenden Schwangerschaft errechneten wir eine Konzentration von $121,8 \pm 78,8$ ng/ml. Der maximale AFP-Spiegel lag zwischen der 33. und 38. Woche der Gravidität, der höchste Wert war 406 ng/ml. In der 39. bis 42. Schwangerschaftswoche erfolgte ein AFP-Konzentrationsabfall.

Bei 10 untersuchten Frauen betrug die AFP-Konzentration bei der Geburt zwischen 40 und 187 ng/ml ($\bar{x} \pm 103$ ng/ml). Nach unseren Untersuchungen von 23 Risikoschwangeren besteht kein signifikanter AFP-Konzentrationsanstieg im Serum der Mutter wie von anderen Autoren in Zusammenhang mit einem Fetal-distress-Syndrom beschrieben. Deutlich erhöhte AFP-Spiegel konnten bei zwei Fällen mit intrauterinem Fruchttod in der 21. und 40. Schwangerschaftswoche festgestellt werden und zwar mit 447 ng/ml (NW: $101,5 \pm 52,9$ ng/ml) und 273 ng/ml (NW: $119 \pm 66,1$ ng/ml).

Für die Ermittlung der biologischen Halbwertszeit des α -Fetoproteins wurden 10 Frauen post partum untersucht. Übereinstimmend konnten

Werte zwischen 2,52 und 2,59 Tagen festgestellt werden; der Mittelwert betrug $2,988 \pm 0,4$ Tagen.

Auf Grund der durchgeführten Proteinclearances-Untersuchungen an 10 Schwangeren besteht bei 3 mit Proteinurie eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Logarithmus des Molekulargewichts, des α -Fetoproteins und der relativen Clearance jedoch nicht bei den übrigen Probandinnen ohne Proteinurie. Auffällig war bei allen Schwangeren eine relativ hohe Ig G-Ausscheidungsrate, auch AFP wurde in 9 von 10 Fällen in weitaus größerem Umfang als auf Grund des Molekulargewichts erwartet ausgeschieden.

Für die Bestimmung der Bedeutung der AFP-Konzentrationsbestimmung im Fruchtwasser wurden 50 unauffällige und 60 Rh-immunisierte Schwangere untersucht. Die höchste Konzentration wurde in der 15./16. Gestationswoche bestimmt. Mit zunehmender Dauer der Gravidität kam es zu einem deutlichen Titerabfall. Die Rh-immunisierte Schwangere unterschieden sich hinsichtlich der α -Fetoproteinkonzentration nicht von normalen. Bei einer Rhesusinkompatibilität wurde in der 28. Schwangerschaftswoche einen mit 1540 ng/ml normalen AFP-Spiegel im Fruchtwasser bestimmt in der 34. Schwangerschaftswoche ergab die Kontrollamniozentese den hochpathologischen Wert von 6330 ng/ml. Einen Tag später erfolgte ein intrauteriner Fruchttod. Eine AFP-Konzentration von 65.000 ng/ml in der 16. Schwangerschaftswoche wurde bei einer Schwangeren bestimmt, bei der wenig später zur Abort eines Kindes mit einer Spina bifida aperta kam. Eine weitere Patientin mit Hydramnion zeigte in der 25. Gestationswoche den erhöhten AFP-Wert von 6.000 ng/ml. Auch diese Schwangerschaft endete mit dem intrauterinen Tod des Feten. Die Untersuchungen zeigen die Bedeutung des AFP-Spiegelbestimmung im Fruchtwasser besonders bei Verdacht auf hereditäre Anomalien des Neuralrohrs. Eine Überwachung von Risikoschwangerschaften mit fortlaufender Bestimmung des AFP-Gehalts in der Amnionflüssigkeit scheint sinnvoll.

Besondere Bedeutung kommt der α -Fetoproteinbestimmung bei der Diagnostik der embryonalen Tumoren zu. Die von uns untersuchten Serumproben von 38 Patienten mit embryonalen Hodentumoren ergab lediglich bei zwei der 12 präoperativ ermittelten Werten eine im Normbereich liegenden AFP-Spiegel. In 83,38 % der präoperativen Serumproben konnten wir einen Hinweis auf die spätere, durch die Histologie, gestellte Diagnose eines teratoiden Carzinom finden. Die postoperativen Konzentrationen korrelierten mit dem klinischen Zustandsbild des Patienten bzw. Auftreten von Metastasen oder Rezidiv des Primärtumors. Seminom-Patienten erwiesen im Normbereich liegende Konzentrationen auf. In 4 Fällen wurden jedoch erhöhte

Spiegel gemessen. Bei einem dieser Patienten wurde bei der Obduktion die ursprünglich histologisch gestellte Diagnose revidiert; es handelte sich um eine embryonale Mischgeschwulst. Radioimmunologische Bestimmung des α -Fetoproteins hat somit eine wichtige Bedeutung, nicht nur für die Diagnose und der Differentialdiagnose der Hodentumoren, sondern und besonders für die Verlaufskontrollen Teratocarzinome zur Aufdeckung von Metastasen oder Rezidiven. Patienten (n=6) mit Epididymitis haben normale AFP-Titer wie auch Patienten mit Spindelzellsarkom.

Patientinnen (n=14) mit serösen Zystadenom-Carzinomen des Ovars zeigen normale AFP-Spiegel wie auch die mit einer Dermoidzyste. Erwähnenswert sei noch der deutlich pathologische AFP-Wert von 230 bzw. 430 ng/ml bei einer Patientin mit malignen metastasierenden Teratom des Ovars.

Nach den vorliegenden Ergebnissen und unter Berücksichtigung der in der Literatur mitgeteilten Daten hat die Bestimmung der α -Fetoprotein in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung embryonaler Tumoren eine entscheidende Bedeutung wie auch bei speziellen Fragestellung der Schwangerschaftsüberwachung. Die Bestimmung ist als Screening-Test an unausgewählten Patientengruppen nicht sinnvoll.

Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil an der I. Medizinischen Klinik der Universität München (Direktor: Prof. Dr. H. Schwiegk), zum Teil am Institut für Klinische Chemie am Klinikum Großhadern der Universität (Direktor: Prof. Dr. M. Knedel) durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. H. Schwiegk und Herrn Prof. Dr. M. Knedel danke ich für die Gewährung der Arbeitsmöglichkeit an diesen beiden Instituten.

Für die Übernahme des Korreferates bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. M. Knedel.

Herrn Priv. Doz. Dr. A. Fateh-Maghadam möchte ich für die Überlassung des Dissertationsthemas danken.

Besonderen Dank spreche ich Herrn Priv. Doz. Dr. A. Fathe-Maghadam für die vielseitigen Anregungen und die Hilfe bei der Abfassung dieser Arbeit aus.

Herrn Priv. Doz. Dr. R. Lamerz meinen herzlichsten Dank für die Unterstützung bei der Zusammenstellung der Literatur und den statistischen Auswertungen.

Für die Überlassung des Untersuchungsmaterials danke ich den Direktoren der I. und II. Frauenklinik der Universität, Herrn Prof. Dr. J. Zander und Herrn Prof. Dr. K. Richter, ebenso dem Chefarzt der Gynäkologischen Abteilung des Städt. Krankenhauses Neuperlach, Herrn Dr. W. Mehring.

Für die stets gute Zusammenarbeit in der Urologischen Abteilung des Städt. Krankenhauses an der Thalkirchner Straße und der Klinik und Poliklinik für Radiologie danke ich den Direktoren Herrn Prof. Dr. E. Schmiedt und Herrn Prof. Dr. J. Lissner.

Frau A. Brandt, Frau M. Hindley und Frau B. Glück meinen freundlichen Dank für die hilfreiche Zusammenarbeit im Labor.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ABELEV, G. I., PEROVA, S. D., KHRAMKOVA, N. J., POSTNIKOVA, Z. A., IRLIN, I. S. :
Production of alpha-globulin by transplantable mouse hepatomas.
Transpl. Bull. 1, 164 (1963)
2. ABELEV, G. I., ASSERCITOVA, I. V., KRAEVSKY, N. A., PEROVA, S. S., PEREVODCHIKOVA, N. I. :
Embryonal serum alpha-globulin in cancer patients.
Int. J. Cancer 2, 551 (1967)
3. ABELEV, G. I. :
Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas; review of experimental and clinical data.
Cancer Res. 28, 1344 (1968)
4. ABELEV, G. I. :
Alpha-foetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors.
Advanc. Cancer Res. 14, 295 (1971)
5. ABELEV, G. I., TSVETKOV, T. I., BIRYULINA, T. I. :
Assessment of the use of highly sensitive methods determining alpha-foetoprotein for the diagnosis of hepatocellular cancer and teratoblastoma.
6. ABELEV, G. I. :
Regulation of alpha-foetoprotein synthesis.
Neoplasma (Bratisl.) 20, 563 (1973)
7. ADINOLFI, A., ADINOLFI, M., COHEN, S. :
Isolation and characterization of human foetal alpha-globulin (a1F) from foetal and hepatoma sera.
Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 251, 197 (1971)
8. AKASAKA, T. :
Two cases of retroperitoneal teratoma. Oral presentation, 8th Annual meeting of the Ja. Soc. of pediat. Surg., Osaka (1971)
9. ALEXANDER, P. :
Foetal "antigens" in cancer.
Nature (Lond.) 235, 137 (1972)

10. ALLAN, L. D., FERGUSON-SMITH, M. A., DONALD, I.,
SWEET, E. M., GIBSON, A. A. :
Amniotic fluid alpha-fetoprotein in the antenatal
diagnosis of spina bifida.
Lancet II, 522 (1973)
11. ALPERT, E., ZUCKERMAN, J. :
Absence of alpha-1-fetoprotein antigen or antibody in
maternal sera.
Lancet II, 465 (1970)
12. ALPERT, E., SCHUR, P., DRYSDALE, J., ISSELBACHER, K. :
Human alpha-fetoprotein : purification and physical
properties.
Fed. Proc. 30, 246 (1971)
13. ALPERT, E., DRYSDALE, J. W., ISSELBACHER, K. I.,
SCHUR, P. H. :
Human alpha-fetoprotein : Isolation, characterization
and demonstration of microheterogeneity.
J. biol. Chem. 247, 3792 (1972)
14. AL-SARRAF, M., KITHIER, K., VAITKEVICIUS, V. K.,
POULIK, M. D. :
Alpha-fetoprotein (AFP) in human tumors.
Embry. and fetal antigens in cancer 2, 309 (1972)
15. AZPIROZ, J. C., VALLE, E., HERBERTH, A., CARRILLO, V.,
VACA, R. :
Gastric teratoma in infants.
Amer. J. Surg. 128, 429 (1974)
16. BAGSHAW, K. D. :
Tumor-associated antigens.
Brit. med. Bull. 30, 68 (1974)
17. BENZIE, R. J., DORAN, T. A., HARKINS, J. L., OWEN, J.,
POTER, C. J. :
Composition of the amniotic fluid and maternal serum
in pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119, 798 (1974)
18. BERGMANN, K. C., LACHMANN, B., WANER, R., KRAMER, H. :
AFP-Bestimmung bei Feten und Früh- und Neugeborenen
mit Atemnotsyndrom mittels einer radialen Immundiffu-
sion.
Dtsch. Gesundheitswes. 30, 403 (1975)

19. BERGSTRAND, C. G., CZAR, B. :
 Demonstration of a new protein fraction in serum from
 human fetus.
 Scand. J. clin. Lab. Invest. 8, 174 (1956)
20. BERGSTRAND, C. G., CZAR, B. :
 Paper electrophoretic study of human fetal serum
 proteins with demonstration of a new protein fraction.
 Scand. J. clin. Lab. Invest. 9, 277 (1957)
21. BERGSTRAND, C. G., KARLSSON, B. W., LINDBERG, T.,
 EKLUND, H. :
 Alpha-foetoprotein, albumin and total protein in serum
 from preterm and term infants and small- for- gestio-
 nal age infants.
 Acta paediat. (Uppsala) 61, 128 (1972)
22. BERNADES, P. :
 Alpha-1-fetoglobulin in primary gastrointestinal
 cancer other than hepatoma.
 Ann. Gastroent. Hepat. 7, 561 (1971)
23. BERRY, C. L., KEEPLING, J., HILTON, C. :
 zitiert nach 7. J. Path. 98, 241 (1969)
24. BOURGEAUX, C., MARTIN, F., AUPECLE, P., GUERRIN, J. :
 Valeur pratique de l'alpha-foetoprotéine au cours
 d'un cancer secondaire du foie d'origine gastrique.
 Presse med. 78, 1277 (1970)
25. BOURGEAUX, C., MARTIN, F., CABANNE, F., BORDES, M.,
 BASTIEN, H., SIZARET, P. :
 Alpha-fetoprotein and neoplasms of the testis.
 Path. Biol. 22, 313 (1974)
- 25a. BRAUCH, W. R. :
 The ontogeny of alpha-foetoprotein in the fetal and
 Neonatal rabbit, and its experimental induction in
 adult rabbits.
 Int. J. Cancer, 10, 451 (1972)
26. BROCK, D. J., SUTCLIFFE, R. G. :
 Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anen-
 cephaly and spina bifida.
 Lancet II, 197 (1972)

27. BROCK, D. J., SCRIMGEOUR, J. B. :
Early prenatal diagnosis of anencephaly.
Lancet II, 1252 (1972)
28. BROCK, D. J., BOLTON, A. E., MONAGHAN, J. M. :
Prenatal diagnosis of anencephaly through maternal
serum alpha-fetoprotein measurement.
Lancet II, 923 (1973)
29. BROCK, D. J., BOLTON, A. E., SCRIMGEOUR, J. B. :
Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly
through maternal plasma alpha-fetoprotein measurement.
Lancet I, 767 (1974)
30. BROCK, D. J., NELSON, M. M. :
Amniotic fluid protein in pregnancies complicated by
anencephaly.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. w. 81, 177 (1974)
31. BROCK, D. J., SCRIMGEOUR, J. B. :
Screening for neural- tube defects.
Lancet I No. 7909, 745 (1975)
32. BROCK, D. J., SCRIMGEOUR, J. B., NELSON, M. M. :
Amniotic fluid alpha-fetoprotein measurement in the
early prenatal diagnosis of central nervous system
disorders.
Clin. Genet. 7, 163 (1975)
33. BRUNNER, K. T. :
Immunologie und Krebs.
Schweiz. med. Wschr. 103, 1249 (1973)
34. BRUNTSCH, U., GALLMEIER, W. M., SCHMIDT, C. G. :
Schwangerschaftsbedingte trophoblastische Tumoren.
Dtsch. Med. Wschr. 100, 313 (1975)
- 34a. BUFBE, D. :
Fetoproteins and childrens tumours.
Gann, Monogr. on Cancer Res. 14, 117 (1973)
35. BURTIN, P. KLEIST, S. von, BUFBE, D. :
Etude sur les antigenes foetaux humains. I. etude
immunelektrophoretique des antigenes du serum foetal
humain absents de serum adulte.
Bull. Soc. biol. (Paris) 49, 1389 (1967)

36. BURTIN, P. :
les antigenes carcinoembryonnaires.
Schweiz. med. Wschr. 102, 1154 (1972)
37. BURTIN, P., KLEIST, S.von:
Die karzinoembryonalen Antigene der menschlichen Tumoren.
Triangel (De.) 11, 123 (1973)
38. BURTIN, P., GENDRON, M. C. :
A tumor associated antigen in human nephroblastomas.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash) 70, 2051 (1973)
39. CAHILL, J., COHEN, H., STARKOVSKY, N. :
Fetus, placenta and newborn. A rapid screening test for detection of alpha-1-fetoprotein as an indicator of fetal distress.
Amer. J. Obstet. Gyn. 119, 1095 (1974)
40. CAROLI, J. :
Valeur comparée de la recherche des alpha-1-feto-protéines et du double marquage à l'or et à la sélén-méthionine en scintigraphie dans le diagnostic des cancers du foie.
Ann. Gastroent. Hepat. 7, 577 (1971)
41. CARTER, C. O. :
Neural- tube malformations in offspring of spina bifida patients.
Lancet I, Nr. 7908, 685 (1975)
42. CHANG, L. L., SIVASAMBOO, R. :
Serum transferrin in cord blood and maternal blood.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. 80, 1013 (1973)
43. CHAYVIALLE, J. A., GANGULI, P. C. :
Radioimmunoassay of alphafetoprotein in human plasma.
Lancet I, 1355 (1973)
44. CHAYVIALLE, J. A., TOUILLON, C., CROZIER, C., LAMBERT, R. :
Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein in human serum. Clinical value in patients with liver diseases.
Digest. Dis. 19, 1102 (1974)
45. CINADER, B. :
The future of tumorimmunology.
Med. clin. N. Amer. 56, 801 (1972)

46. COHEN, H., GRAHAM, H., LAU, H. L. :
Alpha-fetoprotein in pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115, 881 (1973)
47. COLIN, J., VOYER, M., CRUMIERE, C., THOMAS, D. :
Serum albumin in premature babies.
Sem. Hopit. 50, 1797, P. 507 (1974)
48. COTTIER, :
Etude immunologique des protéines sérique foetales
humaines.
Helv. pädiat. Acta 16, 517 (1971)
49. COWCHOCK, F. S., JACKSON, L. G. :
Maternal serum alpha-fetoproteine and anencephaly.
Lancet II, 48 (1974)
50. CUMMING, K. B., PETER, J. B., KAUFMAN, P. J. :
Cell- mediated immunity to tumor antigens in patients
with renal cell carcinoma.
J. Urol. (Baltimore) 110, 31 (1973)
51. DECARVALHO, S. :
Detection of neoantigens in the serum of patients with
active neoplastic diseases by the absorption- immun-
diffusion methode.
Oncology 27, 193 (1973)
52. DELMONT, J., KERMAREC, J., LAFON, C., BONET, J. - P.,
CASSUTO, MASSEYEFF, R. :
Radioimmunoassay of alpha₁-fetoprotein.
Digest. 10, 29 (1974)
53. DORAN, T. A., BENZIE, R. J., HARKINS, J. L., JONES OWEN,
V. M., PORTER, G. J., THOMPSON, W., LIEGREN,
S. I. :
Amniotic fluid tests for fetal maturity.
Amer. J. Obstet. Gyn. 119, 829 (1974)
54. DOTCHEV, D., LIAPPIS, N., HUNGERLAND, H. :
Geschlechtsspezifische Unterschiede der Serumproteine
bei Erwachsenen und Einfluß der oralen hormonellen
Kontrazeptiva auf das Serumeiweißbild.
Clin. Chim. Acta 44, 431 (1974)

55. DUFOUR, D., BARRETTE, D., TREMBLAY, A. :
Localisation de l'alpha-fétoprotéine du liquide amniotique dans des cellules de la lignée érythroblastique du foie et du sang embryonnaire du rat.
Rev. Immun. 33, 315 (1969)
56. DULBECCO, R. :
Viruses in carcinogenesis.
Ann. intern. Med. 70, 1019 (1970)
57. ELGORT, D. A., ABELEV, G. I., LEVINA, D. M., MARIENBACH, E. V., MARTOCHKINA, G. A., LASKINA, A. V., SOLOVJEVA, E. A. :
Immunoautoradiography test for alpha-fetoprotein in the differential diagnosis of germinogenic tumors of the testis and in the evaluation of effectiveness of their treatment.
Int. J. Canc. 11, 586 (1973)
- 57a ENGELHARDT, N. V., SHIPOVA, L. I., GUSEV, A. I., YAKOVA, A. K., TER-GRIGOROVA, E. N. :
Observation on the alpha-F-globulin in secretions of human embryo liver of newborn mice by the fluorescent antibody method.
Bjull. eksp. Biol. Med. 68, 62 (1969)
- 57b ENGELHARDT, N. V., GOUSSOV, A. I., SHIPOVA, L. I., ABELEV, G. I. :
Immunfluoreszent study of alpha-fetoprotein (alpha fp) in liver and liver tumors. I. Technique of alpha fp localization in tissue sections.
Int. J. Cancer 7, 198 (1971)
58. ESTERHAY, R. J., Jr., SHAPIRO, H. M., SUTHERLAND, J. C., McIMTIRE, K. R., WIERNIK, P. H. :
Serum alphafetoprotein concentration and tumor growth dissociation in a patient with ovarian teratocarcinoma.
Cancer (Philad.) 31, 835 (1973)
59. FIELD, B., MITCHELL, G., GARRETT, W., KERR, C. :
Amniotic fluid alpha-fetoprotein levels and anencephaly.
Lancet II, 798 (1973)
60. FINKELSTEIN, J. Z., HIGGINS, G. R., FAUST, J., KARON, M. :
Serum fetoprotein and malignancy in children.
Cancer 30, 80 (1972)

- 60 a FLORIN-CHRISTENSEN, A., ARANA, R. M. :
Alpha-1-fetoprotein and anti-alpha-1-fetoprotein in
acute viral hepatitis.
Brit. med. J. II, 94 (1973)
61. FOY, H., KONDI, A., LINSELL, C. A. :
Fetoprotein in pregnant African women.
Lancet II, 663 (1970)
62. FOY, H., KONDI, A., BOKER, M. A., STANLEY, R., VENNING,
C. D. :
The alpha-fetoprotein test in pregnant women, on oral
contraceptives, newborn babies and pyridoxine-deprived
baboons.
Lancet I, 1336 (1970)
- 62a VAN FURTH, R., ADINOLFI, M. :
In vitro synthesis of foetal alpha one globulin in man.
Nature (Lond) 222, 1296 (1969)
63. GADOW, E. C., FLORIANI, F. A., FLORIN, A. :
Ig G levels in amniotic fluid.
Amer. J. Obstet. Gyn. 119, 849 (1974)
64. GALDO, A., CASADO, J. P., TALAVERA, R. :
Démonstration dans le sérum du fœtus humain d'une
nouvelle fraction protéique au moyen de l'électrophor-
èse sur papier.
Arch. franc. Pédiat. 16, 954 (1959)
- 64a GALLMEIER, W. M., OETTGEN H. F. :
Tumormimmunologie, Virusinduzierte Tumoren.
Dtsch. med. Wschr. 93, 1114 (1968)
65. GANROT, P. O. :
Variation of the concentrations of some plasma pro-
teine in normal adults, in pregnant women and in
newborns.
Scand. J. clin. Invest. 29: suppl. 124, 83 (1972)
66. GAROFF, L., SEPPÄLÄ, M. :
Alpha-fetoprotein and human placental lactogen levels
in maternal serum in multiple pregnancies.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlt. 80, 695 (1973)
67. GASSNER, M., GROB, P. J. :
Konzentrationsverhalten des Alpha-Fetoproteins.
Erhöht bei Hepatomen und Teratomen.
Kurzber. Ärztl. Pr. XXVI. Jhrg. Nr. 95

75. GREEN, M. :
Oncogenic viruses.
Ann. Rev. Biochem. 39, 701 (1970)
76. GUIBEAUD, S., BONNET, M., THEOULON, J. M., DORCHE, J.,
DUMONT, M. :
l' alpha foetoprotéine dans le sang du cordon.
Nouv. Presse med. 4, 409 (1975)
77. GUSDON, J. P., WITHEROW, C. C., LANNUZZI, N. P. :
The role of embryonic antigens in immunologic sterilization.
Amer. J. Obstet. Gynec. 120, 242 (1974)
78. HARDWICKE, J., SQUIRE, J. R. :
The relationship between plasma albumin concentration and protein excretion in patients with proteinurie.
Clin. Sci. 14, 109 (1955)
79. HARDWICKE, J. :
Proteinuria, in: Renal disease, ed. by D. A. K. Black, Blackwell, Oxford 1967
80. HARRIS, R., JENNISON, R. F., BARSON, A. J., LAURENCE, K. M., RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M. :
Comparison of amniotic fluid and maternal serum alpha-fetoprotein levels in the early antenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly.
Lancet 1974 I, 429
81. HASEGAWA, H. :
Alpha-fetoprotein in malignant tumors in children.
Oral presentation, 7th ann. meeting, Japan, Soc. pedist. surgeons 1967
82. HESS, F., BUCHELT, L., SCHAUDIG, G. :
Die germinalen Hodentumoren.
Dtsch. Ärztebl. 44, 3159 (1974)
83. HILDERBRAND, D. C., FAHIM, Z., JAMES, E., FAHIM, M. :
Coeruloplasmin and alkaline phosphatase levels in cord serum of term, preterm, and physiologically jaundiced neonates.
Amer. J. Obstet. Gyn. 118, 950 (1974)

84. HIGA, Y., SASAZUKI, R., NAKAJIMA, H., TAKAYOMA, M.,
TADA, M., SOMA, H. :
Amniotic fluid proteins in the antenatal diagnosis of
some fetal abnormalities.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119, 932 (1974)
85. HIRAI, H., NISHI, S., WATABE, H., TSUKADA, Y. :
Some chemical, experimental and clinical investigations
of alpha-fetoprotein.
Gann, Monogr. on Cancer Res. 14, 19 (1973)
86. HIRSCH-MARIE, H., HUGUET, C. :
Quantitation of alpha-fetoprotein (AFP) in primary
carcinoma of the liver.
Arch. franc. Mal. Appar. Dig. 61/8, 463 (1972)
87. HULL, E. W., MOERTEL, C. G., CARBONE, P. P. :
Serum alpha-fetoprotein (AFP) in cancer patients.
(Abstr.) *Clin. Res.* 17, 403 (1969)
88. HYVARINEN, M., ZELTZER, P., HO, W., STIEHM, E. R. :
Influence of gestational age on serum levels of alpha-1-
fetoprotein, Ig G and albumin in newborn infants.
J. Pediat. 82, 430 (1973)
89. ISHIGURO, T., NISHIMURA, T. :
Radioimmunoassay of maternal serum alpha-fetoprotein
associated with pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 116, 27 (1973)
90. ISHIGURO, T. :
Alpha-fetoprotein in twin pregnancy.
Lancet II, 1214 (1973)
91. ISHIGURO, T. :
Serum alpha-fetoprotein in hydatiform mole, chorion-
carcinoma and twin pregnancy.
Amer. J. Obster. Gynec. 121, 539 (1975)
92. ISHII, M. :
Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein.
Gann, Monogr. Cancer Res. 14, 89 (1973)
93. ITOH, T., SHIRAI, T., NAKA, A., MATSUMOTO, S. :
Yolk sac tumor and alpha-fetoprotein: Clinicopatholo-
gical study of four cases.
Gann, 65, 215 (1974)

94. JOHANNSON, S. H. :
A radioimmunoassay for serum alpha-fetoprotein
based on commercial antiserum.
Lancet II, 7884, 839 (1974)
95. JOHNSON, A. M., UMANSKY, J., ALPOR, C. A., EVERETT, C.,
GREENSPAN, G. :
Amniotic fluid proteins : maternal and fetal contributions.
J. Pediat. 84, 588 (1974)
96. JONAS, D., KÖRNER, F. :
Germinal Hodentumoren.
Diagnostik 7, 677 (1974)
97. JONASSON, L. E., EVRIN, P. E., WIBELL, L. :
Content of beta-2-microglobulin and albumin in human
amniotic fluid.
Acta Obstet. Gynec. Scand. 53, 49 (1974)
98. JONSSON, S., KORNVALL, G. :
The use of protein A-containing Staphylococcus aureus
as a solid phase anti- Ig G reagent in radioimmunoassay
as exemplified in the quantitation of alpha-fetoprotein
in normal human adult serum.
Europ. J. Immunol. 4, 29 (1974)
99. KAISER, E., BAKO, M., STORCZ, J., ÖTVÖS, J., RUBECZ, J.,
MESTYAN, J. :
Clinical correlations with immunoglobulin levels in
newborns in a referral neonatal unit, I. History of
pregnancy and delivery, microbial agents, clinical
types of infection presenting symptoms and serum
Ig M- globulin.
Acta Paediat. 14, 179 (1973)
100. KAISER, e., BAKO, M., STORCZ, M., ÖTVÖS, J., RUBECZ, J.,
MESTYAN, J. :
Clinical correlations with immunoglobulin levels in new-
borns in a referral neonatal unit, II. Neonatal responses
of immunoglobulins in full term, preterm and dysmature
infants admitted with suspected or proved infections.
Acta Paediat. 14, 191 (1973)

101. KARLSSON, B. W., BERGSTRAND, C. G., EKLUND, H., LINDBERG, T.:
Postnatal changes of alpha-fetoprotein, albumin and total protein in human serum.
Acta Paediat. (Uppsala) 61, 133 (1972)
- 101a. KEKOMÄKI, M., SEPPÄLÄ, M., EHNHOLM, C., SCHWARTZ, A. L., RAIVIO, K.:
Perfusion of isolated human fetal liver: synthesis and release of alpha-fetoprotein and albumin.
Int. J. Cancer 8, 250 (1971)
102. KITHIER, K., LUSHER, L., BROUGHT, J., POULIK, M. D.:
effect of therapy on the serum level of alpha-1-fetoprotein in embryonal cell carcinoma.
J. Pediat. 81, 71 (1972)
103. KLEIJER, W. J., SACHS, E. S., NIERMEJER, M. F., JAHODOVA, M.:
Brieven an de redactie: Mogelijkheid van prenatale diagnostiek van anencefalie en apina bifida.
Ned. T. Geneesk 118, Nr. 39, 1485 (1974)
104. KLEINSMITH, L. J., PIERCE, G. B., JR., :
Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells.
Cancer Res. 24, 1544 (1964)
105. KOBAYASHI, C.:
Clinical studies on alpha-fetoprotein (AFP).
Jap. J. Gastroent. 71, 739 (1974)
106. LAFON, J., BONET, C., MASSEYEFF, R., DELMONT, J.:
Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein in metastatic liver cancer (Abstr.) (8th Meeting Europ. Assoc. Study Liver, Vittel, France 1973).
Digestion (Basel) 8, Nr. 5 und 6 (1973)
107. LAMERZ, R., FATEH-MOGHADAM, A., KNEDEL, M.:
Zur quantitativen immunologischen Bestimmung von Serumproteinen.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 111 491 (1973)
108. LAMERZ, R., FATEH-MOGHADAM, A.:
Übersichten. Carcinofetale Antigene I. Alpha-Fetoprotein.
Klin. Wschr. 53, 147 (1975)

109. LAMERZ, R., GRUNST, J., FATEH-MOGHADAM, A., SCHMAL-
HORST, U., PICHLMAIER, H., EISENBURG, J. :
Serum Alpha-Fetoprotein nach partieller Hepatektomie
am Menschen.
Klin. Wschr. 53, 129 (1975)
110. LAMERZ, R., FATEH-MOGHADAM, A. :
Radioimmunologische Bestimmung von Immunglobulin E.
Klin. Wschr. 52, 18-23 (1974)
111. LARDINOIS, R., ANAGNOSTAKIS, D., ORTIZ, M. A., DILISLE,
M. :
Human alpha-1-fetoglobulin during the last trimester
of gestation.
Clin. chim. Acta 37, 81 (1972)
112. LARSEN, B., SNYDER, I. S., GALASK, R. P. :
Transferrin contribution in human amniotic fluid.
Amer. J. Obstet. Gyn. 117, 252 (1973)
113. LAURELL, C. B. :
Quantitative estimation of protein by electrophoresis
in agarose gel containing antibodies.
Ann. Biochem. 15, 49 (1966)
114. LAURENCE, D. J. R., NEVILLE, A. M. :
Foetal antigens and their role in the diagnosis and
clinical management of human neoplasms. a review.
Brit. J. Cancer 26, 335 (1972)
115. LEEK, A. E., RUOSS, C. F., KITAN, M. J., CHARD, T. :
Raised alpha-fetoprotein in maternal serum with
anencephaly pregnancy.
Lancet II, 385 (1973)
116. LEEK, A. E., CHARD, T. :
Maternal alpha-fetoprotein and neural tube defects.
Lancet I, 876 (1974)
117. LEEK, A. E., KITAN, M. J., CHARD, T. :
Origin of alpha-fetoprotein.
Lancet II, 1088 (1974)
118. LEHMANN, F. G., LEHMANN, D., MARTINI, G. A. :
Alpha-1-fetoprotein in liver diseases.
Digestion (Basel) 6, 249 (1972)

119. LEHMANN, F. G., LEHMANN, D. :
 Neue immunologische Techniken und quantitative
 Bestimmung von Alpha 1-Foetoprotein in der Tumor-
 diagnostik.
 Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 78, 841 (1972)
120. LEHMANN, F. G. :
 Tumorantigene.
 Dtsch. Med. Wschr. 99, 410 (1974)
121. LI, M. C. :
 Trophoblastic disease: Natural, history, diagnosis and
 treatment.
 Ann. Int. Med. 74, 102 (1971)
122. LINDER, E., SEPPÄLÄ, M. :
 Localization of alpha-fetoprotein in the human fetus
 and placenta.
 Acta path. microbiol. scand. 73, 565 (1968)
123. LINDER, E., LAHTI, A., SAXAN, L. :
 Immunfluorescent localization of a fetal protein in the
 mouse yolk sac.
 Int. Arch. Allergy 40, 411 (1971)
124. LINDER, D., KAISER, B., HECHT, F. :
 Parthenogenic origin of benign ovarian teratomas.
 New Engl. J. Med. 292, 63 (1975)
125. MALMQVIST, E., LINDSTEN, J., NORGAARD-PEDERSON, B.,
 HELLSTRÖM, B., SUNDBERG, B. :
 Elevated levels of alpha-fetoprotein in maternal serum
 and amniotic fluid in two cases of spina bifida.
 Clin. Genet. 7, 176 (1975)
126. MANCINI, G., CARBONARA, A. O., HEREMANS, J. F. :
 Immunochemical quantitation of antigens by single
 radial immunodiffusion.
 Immunochem. 2, 235 (1965)
127. MARKLEIN, G., RINGS, M. :
 Quantitative immunologische Bestimmung des Alpha-1-
 Fetoproteins im Serum reifer und unreifer Neugeborener,
 sowie im Serum von Säuglingen und Kindern.
 Z. Kinderheilk. 113, 327 (1972)

128. MARTIN, F. :
Diagnostic immunologique des tumeurs digestives malignes.
Arch. Franc. Mal. App. Digest. 61, 688 (1972)
129. MASOPUT, J., KOTAL, L. :
Fetoprotein: Immunochemical behaviour of an autonomous fetal component in sera from human fetuses.
Ann. paediat. (Basel) 204, 138 (1965)
130. MASOPUT, J., KITHIER, K., RADL, J., KOUTECKY, J., KOTAL, L. :
Occurence of fetoprotein in patients with neoplasms and non-neoplastic diseases.
Int. J. Cancer 3, 364 (1968)
131. MASOPUT, J., THOMASOVA, H., KOTAL, L. :
Some physicochemical characterizations of human alpha-1-fetoprotein.
Prot. biol. Fluid 18, 37 (1971)
- 131a MASSEYEFF, R. F. :
Factore influencing alpha-fetoprotein biosynthesis in patients with primary liver cancer and other diseases.
Gann, Monogr. on Cancer Res. 14, 3 (1973)
132. MASSEYEFF, R., BONET, C., SUDAKA, P., LALANNE, C. :
Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein. I. Technique and serum levele in the normal adults.
Digestion 10, 17 (1974)
133. MAWAS, C., BUFBE, D., LEMERLE, J., SCHWEISGUTH, O., BURTIN, P. :
Recherche immunologique de l'alpha-fetoprotéine ou fétuine dans les tumeurs primitives du foie et les tératomes malins de l'enfant. (A propos de 18 cas positifs).
Arch. franc. Pédiat. 26, 779 (1969)
134. MAWAS, C., KOHEN, M., LEMERLE, L., BUFBE, D., SCHWEISGUTH, O., BURTIN, P. :
Serum alpha-1-fetoprotein (fetuin) in children with malignant ovarian or testicular teratomas.
Preliminary results.
Int. J. Cancer 4, 76 (1969)

135. MAWAS, C., BUFFE, D., BURTIN, P.:
Influence of age on alpha-fetoprotein incidence.
Lancet I, 1292 (1970)
136. MAWAS, C., BUFFE, D., SCHWEISGUTH, O., BURTIN, P.:
Alpha-1-fetoprotein and children's cancer.
Rev. Europ. clin. Biol. 16, 430 (1971)
137. MERRIN, C., SARCIONE, E., BOHNE, M., ALPERT, D. J.:
Alpha-fetoprotein in testicular tumors.
J. Surg. Re. 15, 309 (1973)
138. MIALE, J. B., KENT, J. W.:
The effects of oral contraceptives on the results of
laboratory tests.
Amer. J. Obstet. Gyn. 120, 264 (1974)
139. MILES, R. M., STEWART, G. S.:
Sacrococcygeal teratomas in adults.
Ann. Surg. 179, 676 (1974)
140. MILUNSKY, A., ALPERT, E., CHARLES, D.:
Amniotic fluid alpha-fetoprotein in anencephaly.
Obstet. Gynec. 43, 592 (1974)
141. MILUNSKY, A., ALPERT, E.:
The value of alpha-fetoprotein in the prenatale
diagnosis of neural tube defects.
J. Paediat. 84, 889 (1974)
142. MOORMANN, J. G., KÖNIG, K.:
Diagnose und Klassifikation der malignen Hodentumoren.
Dtsch. Med. Wschr. 34, 1502 (1967)
143. NEIDHARDT, M., BURTIN, P., BUFFE, D.:
Die Bedeutung des Alpha-fetoproteins im Rahmen der
pädiatrischen Tumordiagnostik.
Klin. Wschr. 48, 1244 (1970)
144. NEVIN, N. C., NESBITT, S., THOMPSON, W.:
Myelocoele and alpha-fetoprotein in amniotic fluid.
Lancet I, 1383 (1973)
145. NEVIN, N. C., THOMPSON, W., NESBITT, S.:
Amniotic fluid alpha-fetoprotein in the antenatal
diagnosis of neural tube defects.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. 81, 757 (1974)

146. NISHI, S., HIRAI, H. :
Purification and chemical characterization of human alpha-fetoprotein.
Prot. biol. Fluids 18, 43 (1971)
147. NISHI, S. :
Isolation and characterization of a human fetal alpha-globulin from sera of fetuses and a hepatoma patient.
Cancer Res. 30, 2507 (1970)
- 147a NISHIOKA, M., IBATA, T., OKITA, K., HARADA, T., FUJATA, T.
Localization of alpha-fetoprotein in hepatoma tissues by immunfluorescence.
Cancer Res. 32, 162 (1972)
- 147b NISHIOKA, M., IBATA, T., MIYAZATO, K., OKITA, K.,
HIRONAGA, K.,
Immunfluorescence studies on alpha-fetoprotein in hepatoma tissue.
Gann. Monogr. on Cancer Res. 14, 205 (1973)
148. NORGAARD-PEDERSON, B. :
Purification and sensitive immunoelectrophoretical detection and quantitation of human alpha-1-fetoprotein.
Clin. Chim. Acta 38, 163 (1972)
149. NORGAARD-PEDERSON, B. :
Alpha-1-fetoprotein.
Scand. J. Immunol. 2 Suppl. 1, 107 (1973)
150. NORGAARD-PEDERSON, B. :
Alpha-1-fetoprotein concentration in cordserum as a parameter for gestional age.
Acta paediat. (Uppsala) 62, 167 (1973)
151. NORGAARD-PEDERSON, B., LINDSTEN, J., PHILIP, J. :
Alpha-fetoprotein levels in maternal serum and in amniotic fluid from early pregnancy.
Clin. Genet. 7, 170 (1975)
152. O' CONNOR, G. T., TATARINOV, Y. S., ABELEV, G. I., URIEL, I. :
A collaborative study for the evaluation of a serologic test for primary liver cancer.
Cancer (Philad.) 25, 1091 (1970)

153. OETTGEN, H. F., GALLMEIER, W. M. :
Tumorimmunologie. Erfahrungen am Menschen.
Dtsch. Med. Wschr. 93, 1157 (1968)
154. PAPADATOS, C., ALEXION, D., PAPAEOANGELOU, G.,
PETROPOULOS, H., MENDRIS, J. :
Serum levels of immune globuline in postmaturity.
Arch. Dis. Chidh. 49, 222 (1974)
155. PASTORFIDE, G. B., GOLDSTEIN, D. P., KOSASA, T. S. :
The use of a radioimmunoassay specific for human
chorion chonadotropin in patients with molar pregnancy
and gestional trophoplastic disease.
Amer. J. Obstet. Gyn. 120, 1025 (1974)
- 155a PURTILO, D. F., YUNIS, E. J. :
Localization of alpha-fetoprotein synthesis in human
fetuses and hepatomas.
Abstr. Fed. Proc. 30, 634 (1971)
- 155b PURTILO, D. F., YUNIS, E. J. :
Alpha-fetoprotein : its immunofluorescent localization
in human fetal liver and hepatoma.
Lab. Invest 25, 291 (1971)
156. PURVES, L. R., PURVES, M. :
Serum alpha-fetoprotein VI. The radioimmunoassay.
Evidence for the presence of alpha-fetoprotein in the
serum of normal people and during pregnancy.
S. Afr. med. J. 46, 1260 (1972)
157. PURVES, L. R., BRAUCH, W. R., GEDDES, E. W., MANSO, C.,
POTUGAL, M. :
Serum alpha-fetoprotein VII. The range of apparent
serum values in normal people, pregnant women, and
primary liver cancer high risk populations.
Cancer (Philad.) 31, 578 (1973)
- 157a PURVES, L. R., MANSO, C., TORRES, F. O. :
Serum alpha-fetoprotein levels in people susceptible
to primary liver cancer in southern Africa.
Gann, Monogr. on Cancer Res. 14, 51 (1973)

158. RANDLE, G. H., CUMBERBATCH, K., N.:
Alpha-fetoprotein levels in amniotic fluid in normal pregnancy and in pregnancy complicated by anencephaly.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. 80, 1454 (1973)
159. RENNER, E.:
Habilitationsschrift, Köln 1969
160. RITTS, R. E., Jr., NEEL, III, H. B.:
An overview of cancer immunology.
Proc. Mayo Clin. 49, 118 (1974)
161. RODBARD, D., BRIDSON, W., RAYFORD, P. L.:
Rapid calculation of radioimmunoassay results.
J. Lab. clin. Med. 74, 770 (1969)
162. RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M.:
Studies of carcino-fetal proteins: I. Physical and chemical properties of human alpha-fetoprotein.
Int. J. Cancer 7, 218 (1971)
163. RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M., PIHKA, H., VUOPIO, P.:
Studies of carcino-fetal proteins. II. Biochemical comparison of alpha-fetoprotein from human fetuses and patients with hepatocellular cancer.
Int. J. Cancer 8, 283 (1971)
164. RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M.:
Studies of carcino-fetal proteins. III. Development of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein. Demonstration of alpha-fetoprotein in serum of healthy human adults.
Int. J. Cancer 8, 374 (1971)
165. RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M., PIHKA, B., VUOPIO, P.:
A comparative study of alpha-fetoprotein from fetuses and patients with hepato-cellular cancer.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 27, Suppl. 116, 57 (1971)
166. RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M.:
Alpha-fetoprotein in normal serum.
Nature (Lond.) New. Biol. 235, 161 (1972)
167. RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M.:
Radioimmunoassay of maternal serum alpha-fetoprotein during pregnancy and delivery.
Amer. J. Obstet. Gyn. 112, 208 (1972)

168. SABIO, J., BURGERT, E. O., FARROW, G. M., KELALIS, P. P.:
Embryonal carcinoma of the testis in childhood.
Cancer, 34, 2118 (1974)
169. SANANES, R., MARTIN, F., NIVELON, J. C., SIZARET, P.,
BOURGEAUX, C., BORDES, M., ALISON, M.:
Etude cinétique de l'alpha-fetoprotéine.
Arch. franc. Ped. 30, 1043 (1973)
170. SCHMALHORST, U.:
Dissertationsarbeit. München 1976
171. SCHMID, W., MÜHLETHALER, J. P.:
High amniotic fluid alpha-1-fetoprotein in a case of
fetal sacrococcygeal teratoma.
Humangenetik 26, 353 (1975)
172. SCOTT, J. R., PITKIN, R. M., CHANDHURI, T. K.:
The placenta: Immunologic or hemodynamic protector
of the fetus?
Amer. J. Obstet. Gyn. 117, 1109 (1973)
173. SEEBER, S., GALLMEIER, W. M., HÖFFKEN, K., BRUNTSCH,
U., OSIEKA, R., SCHMIDT, C. G.:
Neue Chemotherapiemöglichkeiten bei der Behandlung
metastasierender Hodencarcinome.
81. Kongr. Wiesbaden (1975)
- 173a SELL, S.:
Alpha-fetoprotein; Serum levels in pregnant rats.
J. nat. Cancer hist., 51, 699 (1973)
174. SELL, S., ALEXANDER, D.:
Rat alpha-1-fetoprotein. V. Catabolism and fetal-
maternal distribution.
J. Natl. Canc. Inst. 52, 1483 (1974)
175. SELLER, M. J., CAMPBELL, S., COLTART, T. M.:
Early termination of anencephalic pregnancy after
detection by raised alpha-fetoprotein levels.
Lancet II, 73 (1973)
176. SELLER, M. J., SINGER, J. D., COLTART, T. M., CAMPBELL, S.:
Maternal serum alpha-fetoprotein levels and prenatal
diagnosis of neural tube defects.
Lancet I, 428 (1974)

- 176a SEPPÄLÄ, M., TALLBERG, T., EHNHOLM, C. :
Studies on embryospecific protein; Physiological characterisations of embryo-specific alpha-globulin. *Ann. Med. exp. Fem.*, 45, 16 (1967)
177. SEPPÄLÄ, M., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein in amniotic fluid. An index for gestational age. *Amer. J. Obstet. Gyn.* 114, 595 (1972)
178. SEPPÄLÄ, M., BAGSHAVE, K. D., RUOSLAHTI, E. :
Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein; a contribution to the diagnosis of chorioncarcinoma and hydatiform mole. *Int. J. Cancer* 10 478 (1972)
179. SEPPÄLÄ, M., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein in abortion. *Brit. med. J.* III, 769 (1972)
180. SEPPÄLÄ, M., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein in normal and pregnancy sera. *Lancet* I, 375 (1972)
181. SEPPÄLÄ, M., AHO, J., WIDHOLM, O., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein in uterine hemorrhage during pregnancy and delivery. *Amer. J. Obstet. Gyn.* 113, 323 (1972)
182. SEPPÄLÄ, M. :
Increased alpha-fetoprotein in amniotic fluid associated with a congenital esophageal atresia of the fetus. *Obstet. and Gynec.* 42, 613 (1973)
183. SEPPÄLÄ, M., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein in Rh-immunized pregnancies. *Obstet. and Gynec.* 42, 701 (1973)
184. SEPPÄLÄ, M., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein in maternal serum; a new marker for detection of fetal distress and intrauterine death. *Amer. J. Obstet. Gyn.* 115, 48 (1973)
185. SEPPÄLÄ, M., RUOSLAHTI, E. :
Alpha-fetoprotein; physiology and pathology during pregnancy and application to antenatal diagnosis. *J. Perinat. Med.* 1, 104 (1973)

186. SEPPÄLÄ, M., UNNERUS, H. A.:
Elevated amniotic fluid alpha-fetoprotein in fetal hydrocephaly.
Am. J. Obstet. Gynec. 119, 270 (1974)
187. SHARPSTONE, P., RAKE, M. O., SHILKIN, K. B.:
The diagnosis of primary malignant tumours of the liver. Findings in 48 consecutive patients.
Quart. J. Med. 41, 99 (1972)
188. SHEPARD, B. G.:
Alpha-fetoprotein and teratomas of the testis.
Proc. Royal Soc. Med. 67, 307 (1974)
189. SIMANOWITZ, M. D., MacGREGOR, G. W.:
A critical evaluation of renal protein selectivity in pregnancy.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. 81, 196 (1974)
- 189a SMITH, J. A., FRANCIS, T. I., EDINGTON, G. M., WILLIAMS, A. O.:
Immunofluorescent localisation of human alpha-feto-protein in fetal and neonatal livers and cultured cells from hepatocellular carcinoma.
Brit. J. Cancer 25, 343 (1971)
190. SMITH, J. B.:
Alpha-fetoprotein: occurrence in certain malignant diseases and review of clinical applications.
Med. Clin. N. Amer. 54, 797 (1970)
191. STUDD, J.:
The origin and effects of proteinuria in pregnancy.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. 80, 872 (1973)
192. SUBRAHMANYAN, D. et al.:
Immunochemical studies with human albumin and gamma-globulin of placental origin.
J. immunol. 83, 372 (1959)
193. SUTCLIFFE, R. G., BROCK, D. J.:
Immunological studies on the nature and origin of the major proteins in amniotic fluid.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth. 80, 721 (1973)

194. SZABO, M. A., SEGAL, S., ROSS, L. M. :
Immunoglobulins G and M in newborn cord serum.
Israel. J. Med. Sci. 10, 738 (1974)
195. TALERMAN, A., HALJE, W. G. :
Alpha-fetoprotein and germ cell tumors; a possible role
of yolk sac tumor in production of alpha-fetoprotein.
Cancer 34, 1722 (1974)
196. TATARINOV, Y. S. :
Detection of embryospecific alpha-globulin in the blood
sera of patients with primary liver cancer.
Vop. med. Khim. 10, 90 (1964)
197. TATARINOV, Y. S., NOGALLER, A. :
Diagnostic importance of the embryospecific alpha-
globulin detection in the blood serum of hepatoma
patients.
Vop. Onkol. 12, 26 (1966)
198. TATARINOV, Y. S. :
Content of embryospecific alpha-globulin in fetal and
neonatal sera and sera from adults with primary
carcinoma of the liver.
Vop. Med. Khim. 11, 20 (1965)
Fed. Proc. (Trans Suppl.) 25, 344 (1966)
199. TEILUM, G., ALBRECHTSEN, R., NORGAARD-PEDERSON, B. :
The histogenetic embryologic basis for reappearance
of alpha-fetoprotein in endodermal sinus tumors (yolk
sac tumors) and teratomas.
Acta path. microbiol. scand. 83 A, 80 (1975)
200. TERVILÄ, VARTIAINEN, E., TIMONEN, S., KAUPPINEN, M. :
The urin-plasma ratio of some proteins in gestosis.
Acta Obstet. gyn. Scand. 54, 85 (1975)
201. TSUCHIDA, Y., SAITO, S., ISHIDA, M., OHMI, K., URANO, Y.,
ENDO, Y., ODA, T. :
Yolk sac tumor (endodermal sinus tumor) and alpha-
fetoprotein: a report of 3 cases.
Cancer (Phil.) 32, 917 (1973)
202. TSUCHIDA, Y., IHMI, K., ENDO, Y. :
Embryonal carcinoma and alpha-fetoprotein.
Gann, Monogr. an Cancer Res. 14, 141 (1973)

- 202a URIEL, J. :
Transitory liver antigens and primary hepatoma in man and rat.
Path. et Biol. 17, 877 (1969)
- 202b URIEL, J. :
Transitory liver antigens and primary hepatoma.
Prot. biol. Fluids 18, 211 (1970)
203. URIEL, J., NECHAUD, B. de. :
La recherche d'alpha-fetoprotéine en pathologie humaine. Etat actuel de la question.
Ann. Inst. Pasteur 122, 829 (1972)
204. USHLJIMA, H. :
Clinicopathological study of ovarian tumors in children.
Oral presentation on the 8th annual meeting.
Jap. Soc. of Pediatr. Surg., Osaka, Japan, 1971
205. VIVIAN, A. C., WARD, R. H. :
Alpha-fetoprotein and rhesus isoimmunisation.
Lancet 1974 I, 99
- 205a WADA, T., ANZAI, T., YACHI, A. :
Immunochemical studies on antigenic components common to carcinoma and fetus, and their diagnostic significance- with special reference to the connection with alpha-fetoprotein.
Gann, Monogr. on Cancer Res. 14, 157 (1973)
206. WAHREN, B., EDSMYR, F. :
Fetal proteins occurring in testicular teratomas.
Int. J. Cancer 14, 207 (1974)
207. WALD, N. J., BROCK, D. J., BONNAR, J. :
Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly by maternal serum alpha-fetoprotein measurement.
Lancet 1974 I, 765
208. WALD, N., BARKER, S., PETO, R., BROCK, D. J., BONNAR, J. :
Maternal alpha-fetoprotein levels in multiple pregnancy.
Brit. Med. J. 1, 651 (1975)
209. WALDMANN, T. A., MCINTIRE, K. R. :
The use of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein in the diagnosis of malignancy.
Cancer Suppl. 34, 1510 (1974)

210. WATSON, D., SIDDIQUI, S. A., STAFFORD, J. E. H., GIBHARD, S., HEWL, A. v. :
A comparative study of five laboratory tests for foetal-placental dysfunction in late pregnancy.
J. Clin. Path. 26, 294 (1973)
- 210a WEICHSELBAUM, T. E. :
An accurat and rapid method for the determination of protein in small amounts of blood serum and plasma.
Am. J. Clin. Path. 10, 40 (1948)
211. WEISSBACH, L., VAHLENSIECK, W., TREPPMANN, J. :
Hodentumoren: Wertigkeit diagnostischer Parameter.
Diagnostik 7, 671 (1974)
212. WHYLEY, G. A., WARD, H., HARDY, N. R. :
Alpha-fetoprotein levels in amniotic fluid in pregnancies complicated by rhesus isoimmunization.
J. Obstet. Gyn. Brit. Cwlth 81, 459 (1974)
213. WILKINSON, E. J., FRIEDRICH, E. G., HOSTY, T. A. :
Alpha-fetoprotein and endodermal sinus tumor of the ovary.
Amer. J. Obstet. Gyn. 116, 711 (1973)
214. WISNIEWSKI, L. et al. :
Alpha-fetoprotein in amniotic fluid in early normal pregnancy and intrauterine fetal death.
Brit. Med. J. 3, 742 (1974)
215. ZAWADZKI, Z. A., KRAJ, M. A. :
Alpha-fetoprotein in hepato-cellular disease and neoplastic disorder.
Amer. J. Gastroent. 61, 45 (1974)
216. HOLTER, H., C. HOBBS, A. BAUMGARTEN :
Alpha-fetoprotein as an indicator of fetal condition.
Lancet II, 184 (1975)
217. TONAMI, N., T. ABURANO, K. HISADA :
Comparison of alpha 1-fetoprotein radioimmunoassay method and liver scanning for detecting primary hepatic caell carcinoma.
Cancer 36, 466 (1975)

LEBENS LAUF

Am 21. Oktober 1950 wurde ich als Tochter des Schreinereibesitzers Eduard Hiermeyer und seiner Frau Frieda geb. Böhringer in Freising geboren.

Von 1957 bis 1961 besuchte ich die evang. Volksschule in Freising, wurde anschließend in das dortige Dom-Gymnasium aufgenommen, wo ich am 20. Juli 1970 die Reifeprüfung bestand.

Ich erhielt ein Stipendium für Hochbegabte des Freistaates Bayern.

Am 15. Oktober 1970 immatrikulierte ich mich an der Universität München für das Fach Humanmedizin, wo ich im SS 1971 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im WS 1972/73 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

Am 16. Juni 1976 bestand ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München die ärztliche Prüfung mit der Note "sehr gut".

